

**DIE VERERBUNG  
VON HOMOTHALLIE UND  
HETEROTHALLIE BEI  
SCHIZOSACCHAROMYCES  
POMBE**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

**PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II**

DER

**UNIVERSITÄT ZÜRICH**

VON

**URS LEUPOLD**

AUS ZOFINGEN UND AARAU

BEGUTACHTET VON

**PROF. DR. H. WANNER**

**ZÜRICH 1949**



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41507215\\_0069](https://archive.org/details/IA41507215_0069)

DIE VERERBUNG VON HOMOTHALLIE  
UND HETEROTHALLIE BEI  
SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VON

URS LEUPOLD

AUS ZOFINGEN UND AARAU

BEGUTACHTET VON

PROF. DR. H. WANNER



ZÜRICH 1949

## CURRICULUM VITAE

Ich, URS LEUPOLD, von Zofingen und Aarau, Schweiz, bin am 19. Juli 1923 in Tarakan, Borneo, Niederländisch Indien, geboren worden. Ich habe das Gymnasium in Bern (1934–1939) und in Zürich (1939–1942) besucht und im Herbst 1942 mit der eidgenössischen Maturität (Typus A) abgeschlossen. In den Jahren vom Herbst 1942 bis im Frühling 1948 folgten naturwissenschaftliche Studien an der Universität Zürich, mit Vorlesungen, Uebungen und Praktika bei den Dozenten Prof. Dr. A. ERNST, Prof. Dr. H. WANNER, Prof. Dr. A. U. DÄNIKER, Prof. Dr. C. ZOLLIKOFER, Prof. Dr. E. SCHMID, Dr. M. ERNST SCHWARZENBACH, Dr. H. SCHÄPPI, Prof. Dr. E. HADORN, Prof. Dr. H. STEINER, Prof. Dr. O. SCHLAGINHAUSEN, Prof. Dr. R. FUETER, Prof. Dr. E. MEYER, Prof. Dr. P. KARRER und Prof. Dr. R. STAUB. Anlässlich eines zehnwöchigen Studienaufenthaltes am Carlsberg Laboratorium in Kopenhagen, im Herbst 1946, wurde mit den experimentellen Arbeiten der vorliegenden Dissertation begonnen. Diese Arbeiten wurden vom November 1946 bis im März 1948 am Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich und vom März 1948 bis im Februar 1949 am Carlsberg Laboratorium in Kopenhagen weitergeführt. Sie standen unter der Leitung der Herren Prof. Dr. Ø. WINGE, Kopenhagen, und Prof. Dr. H. WANNER, Zürich, welchen ich für mannigfache Anregung und Förderung zu grösstem Danke verpflichtet bin.



# DIE VERERBUNG VON HOMOTHALLIE UND HETEROHALLIE BEI *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*

VON

U. LEUPOLD

Aus dem Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, Dänemark, und dem Institute für Allgemeine  
Botanik der Universität Zürich, Zürich, Schweiz<sup>1)</sup>.

## INHALT

|                                                               | Seite |
|---------------------------------------------------------------|-------|
| Einleitung .....                                              | 382   |
| I. Die Typen .....                                            | 389   |
| a) Material und Methodik .....                                | 389   |
| b) Der Ausgangsstamm .....                                    | 392   |
| c) Die Geschlechtstypen .....                                 | 394   |
| d) Der Kopulationsverlauf .....                               | 406   |
| e) Zusammenfassung .....                                      | 412   |
| II. Die Kreuzungen .....                                      | 413   |
| a) Das Problem der Praereduktion und Postreduktion .....      | 413   |
| b) Die zytologische Grundlage .....                           | 418   |
| c) Die Kreuzung heterothallisch + × heterothallisch — .....   | 422   |
| d) Die Kreuzung homothallisch 90 % × heterothallisch + .....  | 424   |
| e) Die Kreuzung homothallisch 90 % × heterothallisch — .....  | 432   |
| f) Die Kreuzung homothallisch 40 % × heterothallisch + .....  | 435   |
| g) Die Kreuzung homothallisch 40 % × heterothallisch — .....  | 437   |
| h) Die Kreuzung homothallisch 90 % × homothallisch 40 % ..... | 442   |
| i) Zusammenfassung .....                                      | 442   |
| III. Die Mutationen .....                                     | 445   |
| a) Die Mutationen der homothallischen Typen .....             | 445   |
| b) Die Mutationen der heterothallischen Typen .....           | 450   |
| c) Zusammenfassung .....                                      | 464   |
| Diskussion .....                                              | 465   |
| Summary .....                                                 | 474   |

<sup>1)</sup> Für mannigfache Anregung und Förderung ist der Verfasser den Herren Prof. Dr. O. WINGE, Kopenhagen, und Prof. Dr. H. WANNER, Zürich, zu grösstem Danke verpflichtet.

## EINLEITUNG

Die Genetik der letzten zwanzig Jahre hat sich mehr und mehr den niederen Organismen zugewandt. Einerseits bieten diese einfachen Lebensformen wesentliche Vorteile in technischer Hinsicht, da sie unter kontrollierbaren und beliebig modifizierbaren Umweltsbedingungen gezogen werden können, wobei innert kurzer Frist neue Generationen erhalten werden. Andererseits lassen sich gerade auf einer niederen, noch relativ einfach organisierten Lebensstufe Ergebnisse von einer prinzipiellen Bedeutung voraussehen, wie sie bei höheren Organismen infolge der Differenzierung der Verhältnisse nicht im selben Masse erwartet werden können.

Bevor eine Organismengruppe zu fruchtbaren genetischen Untersuchungen herangezogen werden kann, bedarf es der Klarlegung der Sexualitäts- und Kernphasenverhältnisse. Innerhalb der Hefen hatte E. Chr. HANSEN (1891) als erster sexuelle Vorgänge beobachtet, als er die paarweise Verschmelzung von Sporen im Askus von *Saccharomyces Ludwigii* beschrieb. Allerdings glaubte er, dass diese Vorgänge kaum als eigentliche Kopulationen aufgefasst werden dürften, und suchte das Ziel der Sporenverschmelzungen in der Ermöglichung einer reicheren vegetativen Vermehrung der Sporen. SCHIÖNNING fand 1895 eine Parallele zu diesen Sporenfusionen in der Verschmelzung von Zellen, die die Askusbildung bei *Schizosaccharomyces octosporus* einleitet, und hielt dafür, dass, wenn man sich bei diesen niederen Ascomyceten einen Sexualakt denken könnte, es eben hier sein müsste. Diese Auffassung stand im Gegensatz zu derjenigen des Entdeckers der Art, BEIJERINCK, der 1894 feststellte, es sei »nirgendwo... klarer wie hier, dass der Askus und die Askosporen ohne einen Sexualakt entstehen.« Mit dem Nachweis HOFFMEISTERS (1900), dass die Zellverschmelzungen bei *Schizosaccharomyces* von einer Kernverschmelzung begleitet sind, war die sexuelle Natur dieser Vorgänge erwiesen. GUILLERMOND (1901) konnte die Ergebnisse SCHIÖNNINGS und HOFFMEISTERS an *Schizosaccharomyces* bestätigen und durch eingehendere Untersuchungen ergänzen. Zur selben Zeit (1901) kam BARKER auf Grund der Entdeckung von Zell- und Kernverschmelzungen bei einer (heute als *Z. Barkeri* bekannten) *Zygosaccharomyces*art zum Schluss, dass ein Sexualvorgang einfachster Art vorliegen müsse.

Trotz dieser eindeutig festgestellten Fälle von Sexualität bei Hefen finden sich in der Literatur der folgenden Jahrzehnte, neben Beschreibungen zahlreicher weiterer Beispiele sexueller Vorgänge,

stets wieder Angaben über teilweise oder ausschliessliche »Parthenogenese«, d. h. über die Möglichkeit der Askusbildung ohne vorhergehende Kopulation (GUILLIERMOND, MARCHAND, STELLING-DEKKER und viele andere). Es liegt auf der Hand, dass derartige parthenogenetische Entwicklungsmöglichkeiten sich nur schwer mit einem Kernphasenwechsel in Einklang bringen lassen, wie er für die höheren Ascomyceten bekannt ist und entsprechend auch bei den Saccharomyceten erwartet werden konnte. Zwar wurde die Möglichkeit eines Kernphasenwechsels bei Hefen diskutiert (GUILLIERMOND 1905, KNIEP 1928). Aber WINGE (1935) gebührt das Verdienst, erstmals an Hand klarer, experimenteller Untersuchungen nachgewiesen zu haben, dass auch der Entwicklungszyklus der Hefen als ein normaler Kernphasenwechsel zu verstehen ist.

WINGES Untersuchungen ergaben für vier verschiedene Hefen der Gattung *Saccharomyces*, dass innerhalb des Lebenszyklus stets eine Kopulation eintritt. Sie findet sehr häufig bereits zwischen den einzelnen Askosporen statt. Doch können die Sporen zunächst auch einzeln zu kleinzelligen Kolonien sehr begrenzter Grösse auskeimen, innerhalb welcher die einzelnen Zellen paarweise miteinander kopulieren. In beiden Fällen keimt die Zygote zu einem grosszelligen, vegetativen Stamme aus. Da im Askus die Reduktionsteilung stattfinden muss (diese Annahme ergab sich aus der Parallele mit den höheren Ascomyceten und liess sich in den folgenden Untersuchungen durch den Nachweis von Aufspaltungen im Askus beweisen: WINGE und LAUSTSEN 1937, 1939 b etc.), da weiter gezeigt werden konnte, dass die Zellverschmelzungen von Kernverschmelzungen begleitet sind, mussten diese Resultate als Ausdruck eines normalen Kernphasenwechsels gedeutet werden. Die Sporen wie auch die von ihnen gebildeten, kleinen Zellen sind haploid. Ihre Verschmelzung leitet die vegetative Diplophase ein, die durch die Zygote und die aus ihr entstehenden, grossen Zellen repräsentiert wird. Die Askosporenbildung führt über die Reduktionsteilung wieder zur Haplophase zurück. Für eine »parthenogenetische« Askusbildung liegen keinerlei Anzeichen vor.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>) Eine etwas spätere Untersuchung ergab zwar, dass die Kopulation im Lebenszyklus von *Saccharomyces* unterdrückt werden kann, indem isolierte Askosporen direkt grosszellig diploid auskeimen können, dass aber auch dann eine Karyogamie beobachtet wird (WINGE und LAUSTSEN 1937). Der Keimung der diploiden Sporen geht eine Verschmelzung zweier haploider Kerne voraus, und damit fügen sich auch diese Fälle dem Schema eines normalen Kernphasenwechsels ein.

Kleinzellige, sog. »reduzierte« Formen, die durch Keimung nicht köpulierender Sporen erhalten werden können und durch paarweise Kopulation von Zellen wieder die grosszellige Normalform rekonstituieren, waren für eine ganze Anzahl von Hefen bereits 1918 von KRUIS und ŠATAVA beschrieben worden (KRUIS und ŠATAVA, 1918; ŠATAVA, 1918; vgl. auch ŠATAVA, 1934). Doch blieben diese Arbeiten bis zum Erscheinen der Arbeit WINGES unbekannt. Wenn sich auch manche der Beobachtungen WINGES bereits in den Abhandlungen der beiden tschechischen Autoren finden, so ist es doch WINGES Verdienst, die klare und eindeutige genetische Erklärung für die beobachteten Erscheinungen gegeben zu haben.

WINGES Entdeckung eines normalen Kernphasenwechsels bei den Hefen bildet den eigentlichen Ausgangspunkt für die heutige Hefegenetik. Zwar lagen bereits eingehende Untersuchungen der Schule NADSONS über die mutationsauslösende Wirkung von Röntgenstrahlen und Radiumemanation vor (NADSON und PHILIPPOV, 1925, 1928, 1932; PHILIPPOV, 1932; NADSON und ROCHLINA, 1933; OLENOV, 1934; eine kurze Zusammenfassung der Arbeiten der russischen Schule findet sich bei OLENOV, 1934). Es wurden zahlreiche beständige neue Rassen erhalten. Die Veränderungen betrafen die wichtigsten Merkmale, die zur Bestimmung der Art dienen: Form und Grösse der Kolonien, Form und Grösse der Zellen, die Sporenbildung und ihre Eigentümlichkeiten, die fermentativen Eigenschaften, die Widerstandsfähigkeit hohen Temperaturen gegenüber, antigene Eigenschaften u. a.

Doch konnte sich die Genetik der Hefen erst von dem Augenblicke an weiter entwickeln, als die Grundlagen des Kernphasenwechsels und des sexuellen Verhaltens näher bekannt waren. Als besonders wichtig erwies sich auch die Entwicklung einer Kreuzungstechnik, die darauf beruhte, einzelne Sporen mit Hilfe des Mikromanipulators zu isolieren und paarweise im hängenden Tropfen zusammenzusetzen (WINGE und LAUSTSEN 1938). In dieser Weise lässt sich in einem genügenden Prozentsatz der Fälle eine Kopulation der kombinierten Sporen erreichen. Die Methode gestattet, verschiedene Rassen und selbst Arten zu kreuzen und damit das Verhalten der Hybriden und ihrer Nachkommen zu studieren (WINGE und LAUSTSEN, 1938, 1939 a). Durch die Isolation der Sporen einzelner Asci und das Studium der Aufspaltungen innerhalb der Einzelsporkulturen liess sich für diploide Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae* und *S. ellipsoideus* Heterozygotie in einer

Vielzahl von Genen nachweisen (WINGE und LAUSTSEN, 1937; WINGE, 1944). In anderen Fällen zeigten die Aufspaltungen Heterozygotie in einem Genpaar (DITLEVSEN, 1944, an *Saccharomyces italicus*) oder in zwei Genpaaren (WINGE und LAUSTSEN, 1939 b, an *Saccharomycodes Ludwigii*). Weitere Untersuchungen beschäftigten sich mit dem Auftreten von Mutationen und ergaben eine beträchtliche spontane Mutabilität der Hefen (SKOVSTED, 1943, 1948, WINGE 1944).

Diese Arbeiten WINGES und seiner Mitarbeiter betrafen zunächst vor allem morphologische Merkmale wie die Ausbildung von Zellen und Kolonien, aber auch die Merkmale der Sporenbildung und Sporenkeimung. 1939 (a) finden sich in einer Arbeit WINGES und LAUSTSENS erstmals Angaben über die Vererbung enzymatischer Eigenschaften in Artkreuzungen. Seit einer Reihe von Jahren haben LINDEGREN und seine Mitarbeiter in den Vereinigten Staaten diese Studien fortgesetzt und für die Fähigkeit der Hefen, bestimmte Zucker zu vergären, teilweise einfache, monohybride Aufspaltungen gefunden. Da dies aber nur für bestimmte Bedingungen gilt und die Verhältnisse durch Adaptationserscheinungen kompliziert werden, wurden zur Erklärung der Ergebnisse weittragende genphysiologische Theorien über die Rolle des Cytoplasmas und die Natur der Gene entwickelt (LINDEGREN, SPIEGELMAN und LINDEGREN, 1944; SPIEGELMAN, LINDEGREN und LINDEGREN, 1945; LINDEGREN, 1945 a, 1945 b; LINDEGREN und LINDEGREN, 1947). WINGE und ROBERTS (1948) haben aber in einer neuen Untersuchung über die Vererbung enzymatischer Eigenschaften zeigen können, dass sich selbst komplizierte Erscheinungen der Enzymvererbung mit den Begriffen der klassischen Genetik erklären lassen.

In unserem Zusammenhange interessieren nun aber vor allem die Ergebnisse LINDEGRENS über das Geschlecht und die Geschlechtsvererbung der Hefen. Während nämlich WINGE und seine Mitarbeiter auf Grund der Untersuchungen der ersten Jahre zur Auffassung gelangten, dass sie Hefen vorwiegend homothallisch seien, versuchte der amerikanische Autor nachzuweisen, dass im Gegenteil die Heterothallie vorherrsche.

Zur Zeit der ersten Untersuchungen über die Sexualität der Hefen war die Heterothallie noch kaum bekannt. Erst in der Folge der Arbeiten von BLAKESLEE ist ihre Verbreitung und Bedeutung bekannt geworden. BLAKESLEE (1904) hat die Ausdrücke »Homothallie« und »Heterothallie« geschaffen, um die Verhältnisse der

geschlechtlichen Reproduktion bei den Mucorineen zu charakterisieren. Sie haben sich, trotz der Einwände, die CORRENS (1913, 1918), HARTMANN (1918, 1929, 1943) und KNIEP (1928) gegen ihre Verwendung erhoben haben, in der Thallophytenliteratur eingebürgert und werden neben den entsprechenden Ausdrücken »Monoeicie« und »Dioecie« auch heute noch vielfach verwendet. Da dies auch in der hefeogenetischen Literatur geschieht, soll die Bezeichnungsweise BLAKESLEES in dieser Arbeit beibehalten werden.

Manche der früheren Beobachtungen über die Sexualitätsverhältnisse der Hefen sind heute als beweisend für Homothallie anzusehen, so bereits SCHÖNNINGS Beschreibung der Kopulation von Schwesterzellen (also von genetisch identischen Zellen, die durch einfache, vegetative Teilung aus einer vegetativen Mutterzelle hervorgegangen sind) bei *Schizosaccharomyces octosporus*. Das Vorkommen von Schwesterzellkopulationen bei *Sch. octosporus*, *Sch. Pombe* und *Sch. mellacei* als normaler Kopulationsweise ist von GUILLIERMOND (1901, 1903, 1905) weiter untersucht worden und deutet auf Homothallie innerhalb aller drei Arten. Ebenso deutlich geht dies aus dem Sporenbildungsvermögen von Einzelzell- und Einzelsporkulturen hervor. BEIJERINCK (1897, 1898) hat bei *Sch. octosporus* und *Sch. Pombe* Einzelstämme isoliert, die in sich wieder zu Kopulation und reicher Sporenbildung befähigt waren. Dasselbe berichten GUILLIERMOND (1931) und LINDEGREN (1945 b.). Für *Zygosaccharomyces Barkeri* hat BARKER (1901) gezeigt, dass in Einzelzellkulturen Kopulationen und Askusbildung erhalten werden können. Bei *Debaryomyces* und gewissen *Zygosaccharomyces*arten wird, nach den Untersuchungen GUILLIERMONDS, eine heterogame Kopulation zwischen einer grösseren Mutterzelle und einer durch Sprossung aus ihr entstandenen kleineren Knospe beobachtet. Dasselbe gilt, nach den Arbeiten von NADSON und KONOKOTINE, für die Arten der Gattung *Nadsonia*. Alle derartigen Beobachtungen sprechen für Homothallie in den betreffenden Arten.

WINGE hatte bereits 1935 festgestellt, dass isolierte Einzelsporkulturen von *S. ellipsoideus* in normaler Weise Sporen bilden, nach dem sie bereits frühzeitig durch paarweise Kopulationen der haploiden Zellen in den diploiden Zustand übergegangen sind. Die Erfahrung der nächsten Jahre lehrte, dass auch mehr oder weniger stabile haploide Stämme isoliert werden können, d. h. Stämme, die erst nach einiger Zeit oder überhaupt nicht in den diploiden Zustand übergehen. Dasselbe war auch von KRUIS und ŠATAVA

beobachtet worden und führte zur Vermutung, dass die in der Hefesystematik als *Torula* beschriebenen, kleinzelligen Hefeformen nichts anderes als derartige, stabile Haplophasekulturen darstellen könnten. WINGE und LAUSTSEN (1937) versuchten, durch paarweise Kombination von als *Torula*-Formen registrierten Stämmen Kopulationen auszulösen, da es möglich schien, dass eventuelle selbststerile Typen in bestimmten Kombinationen kopulieren könnten. Diese Annahme erwies sich als unrichtig und führte zur Feststellung, dass allem Anschein nach alle Saccharomyceten entweder homothallisch oder asexuell seien.

Ein Fall von Heterothallie bei einer Hefe wurde 1939 (b) von WINGE und LAUSTSEN beschrieben. Es handelt sich um spezielle Verhältnisse bei *Saccharomyces Ludwigi*, wo die vier Sporen eines Askus paarweise zusammenhängen und bei der Keimung in derselben Anordnung paarweise verschmelzen, wonach die Zygoten zu einer normalen vegetativen Diplophase auskeimen. Werden die einzelnen Sporen eines Askus isoliert und getrennt weitergezogen, so liefert je eine der beiden Sporen eines Sporenpaares eine stabile, haploide Kultur, während die andere Spore mycelartig auskeimt, das Wachstum aber nach der Bildung von höchstens einer oder zwei Querwänden einstellt und abstirbt. Das Gen für normales Wachstum wird mit N, dasjenige für frühzeitig abgebrochenes Wachstum mit n bezeichnet. Die Diplophase der heterozygoten Konstitution Nn ist lebensfähig. Die normal-wachsenden, haploiden Stämme der Konstitution N zeigen weder isoliert noch in beliebiger Kombination mit anderen N-Stämmen Kopulationen. Offenbar liegt also ein Fall von Heterothallie vor, wobei die kontrollierenden Geschlechtsgene mit den Faktoren N und n gekoppelt sein müssen.

Im Gegensatz zu den Resultaten der daenischen Autoren fand LINDEGREN auf Grund der paarweisen Kombination von 58 stabilen Einzelsporkulturen von *Saccharomyces cerevisiae*, dass die Sexualreaktionen dieser Art heterothallisch verlaufen. Die Versuche zeigten im Prinzip, dass die Stämme zwei Paarungstypen angehören, deren Vererbung durch ein Allelenpaar a/a gesteuert wird (LINDEGREN und LINDEGREN, 1943 a, 1943 b, 1944 a, 1944 b; LINDEGREN, 1945 a, 1945 b). LINDEGREN hat auf Grund dieser Ergebnisse eine neue Kreuzungstechnik für Hefen entwickelt, die einfach darin besteht, eine a- und eine  $\alpha$ -Kultur der beiden zu kreuzenden Stämme in einer Massenkombination zu mischen und kopulieren zu lassen. Seine Erfahrungen über das Geschlechtsverhalten der Hefen führ-

ten ihn zur Annahme, dass für Formen der Gattung *Saccharomyces* und verwandte Arten der heterothallische Modus ganz allgemein gültig sei.

Nun findet LINDEGREN allerdings eine Reihe von Ausnahmen. Zunächst einmal ist es nur ein Teil der Einzelsporkulturen, die eine stabile Haplophase bilden. Die übrigen gehen durch paarweise Kopulationen innerhalb der Haplophasekultur in die Diplophase über.<sup>1</sup> Derartige Kopulationen werden, da sie sich dem heterothallischen Schema nicht einordnen lassen, einfach als »illegitim« bezeichnet, während diploide Stämme, die durch Kopulation zweier entgegengesetzter Paarungstypen entstanden sind, das Prädikat »legitim« erhalten. Nur »legitime« diploide Stämme sind nach LINDEGREN zur Bildung viersporiger Asci mit lebensfähigen Sporen befähigt, während »illegitime« Stämme gewöhnlich nur zweisporige Asci mit lebensunfähigen Sporen liefern. — Weiter gibt es einige seltene Haplophasekulturen hoher Fertilität, die mit anderen Stämmen desselben Paarungstyps kopulieren können. Endlich finden sich einige frisch isolierte Kulturen, welche sich in allen Kombinationen als steril erweisen. Dasselbe gilt für den Grossteil der Kulturen, die bereits längere Zeit aufbewahrt worden sind.

Trotz dieser Ausnahmen zeigen die Ergebnisse LINDEGRENS deutlich genug, dass der Geschlechtsbestimmung gewisser *Saccharomyces*-Stämme ein heterothallisches Schema zugrundeliegt. Dies ist neuerdings auch von WINGE und ROBERTS (1948, 1949) für einen bestimmten Stamm von *Saccharomyces cerevisiae* bestätigt worden. Somit sind für die *Saccharomyceten* sowohl Fälle deutlicher Homothallie wie auch solche deutlicher Heterothallie bekannt geworden. Vollständig heterothallisch scheinen nur sehr wenige Typen zu sein. Dagegen werden alle Uebergangsstufen von Heterothallie zu Homothallie angetroffen. Welcher Art allerdings diese Uebergänge sein sollen, darüber wissen wir noch recht wenig. Einige Resultate LINDEGRENS scheinen darauf zu deuten, dass relative Sexualität im Spiele ist. Wie aber ist das Nebeneinander haploider und diploider Stämme zu erklären? Sind die stabilen haploiden Einzelsporkulturen vorwiegend homothallischer Formen stets steril, oder finden sich auch — eventuell als Folge von Mutation — eigentlich heterothallische Stämme unter ihnen? Sind umgekehrt die »illegitimate diploids« innerhalb vorwiegend heterothallischer Typen tatsäch-

<sup>1</sup>) Eine genetische Aufspaltung in haploide und diploide Kulturen wurde nicht nachgewiesen.

lich homozygot für eines der beiden Geschlechtsgene, d. h. also entstanden durch Kopulation zweier Zellen desselben Paarungstyps? Oder spielen vielleicht auch hier Mutationen eine Rolle, etwa derart, dass solche »illegitime« Kopulationen sich zwischen Zellen des ursprünglichen Paarungstyps und solchen des entgegengesetzten, durch Mutation entstandenen Paarungstyps abspielen, worauf die entstandene, heterozygote Diplophase die Haplophase verdrängt? Oder wird die Kopulationsfähigkeit innerhalb dieser unstabilen Haplophasekulturen durch eine Mutation von heterothallisch zu homothallisch bedingt?

Sicher ist, dass es von grösstem Interesse sein muss, noch Näheres über die Sexualitätsverhältnisse der Hefen und ihre Vererbung zu erfahren. Hier liegt eine niedere Organismengruppe mit einer wenig differenzierten Sexualität vor, deren Labilität wesentliche Ergebnisse über die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts auf dieser Lebensstufe erwarten lässt. Dies gilt besonders auch für das Problem der Gemischtgeschlechtlichkeit und Getrenntgeschlechtlichkeit, da hier beide Zustände in naher Beziehung nebeneinander vorkommen. Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, diese Beziehung an einem Haplonten unter den Hefen, *Schizosaccharomyces Pombe*, aufzudecken und genetisch zu analysieren, und damit auch zum Verständnis der Situation innerhalb der vorwiegend diploiden Hefen beizutragen.

## 1. DIE TYPEN

### a) *Material und Methodik.*

Als Ausgangstamm für die folgenden Untersuchungen diene ein Stamm von *Schizosaccharomyces Pombe*, der im Frühling 1947 aus der Hefesammlung des »Centraal-Bureau voor Schimmelcultures« in Delft bezogen worden war. Er stammt ursprünglich von OSTERWALDER, der ihn aus Traubensaft isoliert und 1924 als *Schizosaccharomyces liquefaciens* OSTERWALDER erstmals beschrieben hat. Da sich der Stamm im wesentlichen nur in seinem starken Gelatineverflüssigungsvermögen von *Schizosaccharomyces Pombe* LINDNER unterscheidet, wurde er von STELLING-DEKKER (1931) als *Schizosaccharomyces Pombe* LINDNER, Rasse *liquefaciens* (OSTERWALDER) zu *Sch. Pombe* gestellt.

*Schizosaccharomyces Pombe* war erstmals von LINDNER (1893) beschrieben worden. Der Entwicklungszyklus ist der eines Haplonten

ten. Die vegetative Phase wird durch haploide, in Bierwürze zylindrische, auf Malzagar ovale bis rundliche Zellen gebildet. Die vegetative Vermehrung erfolgt durch einfache Querteilung der Zellen in zwei Tochterzellen gleicher Grösse. Die Sporenbildung wird durch die paarweise Kopulation isogamer Zellen eingeleitet. Die Diplophase ist auf die Zygote beschränkt, welche sogleich zur Reduktionsteilung übergeht und einen Askus mit meist vier haploiden Sporen liefert. Diese kommen im schlauchförmigen Askus hintereinander in einer Reihe zu liegen. Die Sporenbildung wird besonders leicht auf Malzagar ausgelöst. Nach Uebertragung in frische Nährlösung keimen die Sporen wieder zu haploiden, vegetativen Zellen aus.

Der haplontische Lebenszyklus wie besonders auch die Tatsache, dass die vier Sporen von *Sch. Pombe* innerhalb des Askus in einer Reihe angeordnet sind, haben die Wahl dieser Hefeart als eines genetischen Untersuchungsobjektes bestimmt. In der Haplophase können auch rezessive Gene und allfällige rezessive Mutationen direkt zur Beobachtung gelangen. In den regelmässig viersporig ausgebildeten Asci lassen sich alle vier Reduktionsprodukte einer Tetrade erfassen, wenn die vier Sporen eines Askus zur Keimung gebracht werden können. Schliesslich erlaubt die reihenförmige Anordnung der Askosporen unter Umständen, wertvolle Schlüsse über die Häufigkeit der Prä- und Postreduktion bestimmter Allelenpaare und damit über ihre Lokalisation in den Chromosomen zu ziehen.

Als erste Aufgabe waren die Sexualitätsverhältnisse der Art zu studieren, da ihre Kenntnis die Grundlage für die Wahl der Kreuzungstechnik bildete. Auch hier lautete die Frage: Homothallie oder Heterothallie? Wie in der Einleitung dargelegt, sprachen alle bisherigen Angaben über *Schizosaccharomyces* für Homothallie. Doch zeigen die Resultate an diploiden Hefen, dass die eindeutige Entscheidung unter Umständen schwierig sein kann. Die entsprechenden Untersuchungen an *Schizosaccharomyces Pombe* haben sich in der Folge als so interessant erwiesen, dass an weitere genetische Arbeiten einstweilen nicht zu denken war. Die Ergebnisse über das Vorkommen und die Vererbung von Homothallie und Heterothallie bei *Sch. Pombe* bilden das Thema der vorliegenden Abhandlung.

Zunächst gilt es, die Kopulations- und Sporenbildungsfähigkeit von Ausgangskultur und isolierten Einzelzell- und Einzelspor-

kulturen zu untersuchen. Die Methodik der Isolierung und Aufzucht von Einzelzellen und Einzelsporen ist von WINGE (1935) und WINGE und LAUSTSEN (1937) beschrieben worden. Zur Auslösung der Sporenbildung werden frische, viertägige Bierwürzekulturen durch Schütteln gut durchmischt und einige  $\text{cm}^3$  der Zellsuspension in Schrägagarröhrchen mit Malzagar übertragen, hier noch einmal durchgeschüttelt und dann bis auf die letzten Tropfen abgeleert. Diese werden durch Drehen und Wenden der Röhrchen gleichmässig auf der Agaroberfläche verteilt, worauf die Röhrchen während fünf Tagen bei  $25^\circ\text{C}$  derart gelagert werden, dass die Oberfläche des Schrägagars jeweilen horizontal zu liegen kommt. Nach fünf Tagen ist, wie im folgenden Abschnitt gezeigt werden soll, das Maximum der Sporenbildung bereits weitgehend erreicht, weshalb für die Bestimmung des Sporenprozentatzes stets fünftägige Sporenkulturen verwendet wurden.<sup>1)</sup> Hierzu wird das auszuwertende Schrägagarröhrchen mit Wasser aufgefüllt, die sporenführende Zellschicht mittels eines Glasstabes im Wasser aufgerührt und gleichmässig durchmischt, und ein Tropfen dieser Zellsuspension in der Zählkammer ausgezählt. Zur Auszählung kamen anfangs 500 Einheiten pro Kultur (Tabelle 1, Fig. 1), im folgenden ausschliesslich 250 Einheiten pro Kultur. Als Einheiten sind hierbei sowohl vegetative Zellen, wie auch Askosporen verstanden. Als Askosporen werden gezählt: a) Kopulationen, jede Kopulation zu vier Sporen gerechnet; b) Asci, jeder Askus zu vier Sporen gerechnet; c) freie Einzelsporen, die den Askusverband verlassen haben. Das Verhältnis der so gewonnenen Anzahl von Sporen zur Gesamtanzahl der Einheiten (500 resp. 250) findet sich in den Tabellen und graphischen Darstellungen als Prozentverhältnis ( $\text{‰}$  Sporen) angegeben.

Zur Bestimmung der Sporenbildung in Kombinationen von Einzelstämmen werden von viertägigen Bierwürzekulturen der zu kombinierenden Stämme gleiche Mengen gut durchmischter Zellsuspension (je  $1\text{ cm}^3$ ) in Schrägagarröhrchen durchgeschüttelt, worauf die Mischung bis auf wenige Tropfen abgeleert wird. Im übrigen wird in der selben Weise verfahren wie mit Einzelkulturen. Die Sporenkultur der Massenkombination kann nach fünf Tagen in der üblichen Weise ausgezählt werden. In vielen Fällen genügt es, nur qualitativ festzustellen, ob Kopulationen und Sporen gebil-

<sup>1)</sup> Findet sich an dem betreffenden Tage keine Zeit, die Auswertung durchzuführen, so lassen sich die Kulturen ohne Veränderung tagelang bei  $0^\circ\text{C}$  aufbewahren.

det worden sind (»K« = Kopulationen und Sporen in grosser Zahl) oder nicht (»o« = keine oder höchstens wenige Prozent von Kopulationen und Sporen).

*b) Der Ausgangsstamm.*

Vorerst wurde die Sporenbildung des Ausgangstammes untersucht. Es wurden gleichzeitig acht parallele Sporenkulturen angesetzt und von diesen je eine Kultur nach 1, 2, 3, 5, 15, 25, 35, bzw. 45 Tagen ausgezählt. Tabelle 1 gibt für jede Bestimmung den prozentualen Anteil an einfachen, vegetativen Zellen, in Teilung befindlichen vegetativen Zellen, Kopulationen (jede Kopulation zu vier Sporen gerechnet), Asci (jeder Ascus zu vier Sporen gerechnet) und freien Einzelsporen, sowie den prozentualen Anteil sämtlicher der in Form von Kopulationen, Asci und freien Einzelsporen gezählten Ascosporen. Fig. 1 gibt die Verhältnisse in graphischer Darstellung. Es wird folgendes beobachtet: Nach einem Tag sind die vegetativen Zellen in voller Vermehrung begriffen und zeigen noch die für Bierwürzezellen charakteristische, zylindrische Form mit abgerundeten Ecken, wie auch die hyaline Struktur des Cytoplasmas der Bierwürzezellen; Kopulationen finden sich noch kaum.

**Tabelle 1.**

Die Entwicklung des Ausgangstammes in der Sporenkultur im Laufe von 45 Tagen. — Angabe der Anzahlen von Zellen und Sporen in ‰ der Gesamtzahl der Einheiten (Zellen + Sporen).

| Tage nach An-<br>setzen der<br>Sporenkultur | Vegetative<br>Zellen<br>einfach | Vegeta-<br>tive Zellen<br>in Teilung | Kopula-<br>tionen,<br>jede Kop.<br>zu 4 Spo-<br>ren ge-<br>rechnet | Asci, jeder<br>Ascus zu 4<br>Sporen<br>gerechnet | Freie<br>Einzel-<br>sporen | Summe der<br>in Form<br>von Kopu-<br>lationen,<br>Asci und<br>Einzel-<br>sporen ge-<br>zählten<br>Ascosporen |
|---------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 .....                                     | 96,0                            | 3,2                                  | 0,8                                                                | 0,0                                              | 0,0                        | 0,8                                                                                                          |
| 2 .....                                     | 79,0                            | 1,0                                  | 11,2                                                               | 8,8                                              | 0,0                        | 20,0                                                                                                         |
| 3 .....                                     | 52,2                            | 0,2                                  | 3,2                                                                | 44,0                                             | 0,4                        | 47,6                                                                                                         |
| 5 .....                                     | 38,8                            | 0,2                                  | 0,8                                                                | 43,2                                             | 17,0                       | 61,0                                                                                                         |
| 15 .....                                    | 36,6                            | 0,0                                  | 1,6                                                                | 0,8                                              | 61,0                       | 63,4                                                                                                         |
| 25 .....                                    | 35,0                            | 0,4                                  | 0,0                                                                | 0,8                                              | 63,8                       | 64,6                                                                                                         |
| 35 .....                                    | 35,4                            | 0,2                                  | 0,0                                                                | 1,6                                              | 62,8                       | 64,4                                                                                                         |
| 45 .....                                    | 34,4                            | 0,2                                  | 0,0                                                                | 0,0                                              | 65,4                       | 65,4                                                                                                         |

Am zweiten Tage wird das Wachstum verlangsamt, die Zellen besitzen grossenteils die typische ovale Form und körnige Beschaffenheit von Malzagarzellen; der Höhepunkt der Kopulationen vegetativer Zellen ist erreicht, und ein Teil der Zygoten hat bereits die Reduktionsteilung durchlaufen und Asci gebildet. Mit dem dritten Tage ist die vegetative Vermehrung zur Hauptsache abgeschlossen; der Prozentsatz der Kopulationen geht zurück, dagegen erreicht die Zahl intakter Asci ihr Maximum, und bereits beginnen die ersten Asci unter Auflösung der Ascuswand in die vier Sporen zu zerfallen. Der fünfte Tag bildet den Abschluss der ersten Phase intensiver Sporenbildung, indem die Gesamtzahl der Sporen vom fünften Tage an nur noch wenig steigt; Kopulationen werden nicht mehr häufig

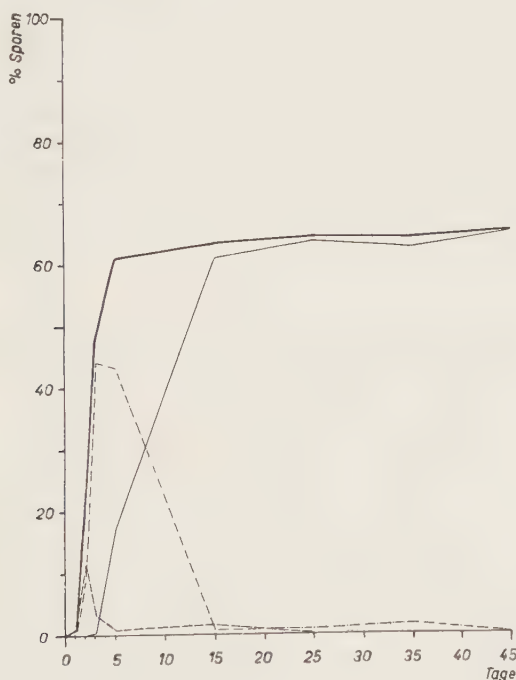


Fig. 1. Die Entwicklung des Ausgangsstammes in der Sporenkultur im Laufe von 45 Tagen. — In der Abszisse die Anzahl der Tage, in der Ordinate die Anzahl der Sporen in Prozenten der Gesamtzahl der Einheiten (Zellen + Sporen). — Vgl. Tab. 1.

- — — % Kopulationen, jede Kopulation zu vier Sporen gerechnet.
- . - . - % Asci, jeder Ascus zu vier Sporen gerechnet.
- — — % freie Einzelsporen.
- — — % Sporen als Summe der in Form von Kopulationen, Asci und freien Einzelsporen gezählten Ascosporen.

beobachtet, und der Prozentsatz intakter Asci nimmt ab, da bereits eine grössere Anzahl in die freien Sporen zerfallen ist. Nach fünfzehn Tagen ist der grösste Teil der Asci in die freien Sporen zerfallen, und von da an ändert sich die Zusammensetzung der Kulturen nur noch wenig, da in der alternden Kultur weder Zellteilung und Auskeimung der gebildeten Sporen, noch Eingehen neuer Kopulationen beobachtet wird. Es wird asymptotisch ein gesamter Sporenprozentsatz von ca. 65 % angenähert.

c) *Die Geschlechtstypen.*

Von der Untersuchung der Sporenbildung in Einzelzell- und Einzelsporkulturen wurde eine Entscheidung in der Frage »Homothallie oder Heterothallie?« erwartet. Zunächst wurden hundert Einzelzellen des Ausgangsstammes isoliert und die Einzelzellkulturen auf Malzagar auf ihre Sporenbildungsfähigkeit geprüft. Gleichzeitig wurden zehn Kontrollkulturen des Ausgangsstammes angesetzt. Das Ergebnis war durchaus überraschend. Der Ausgangsstamm zeigte zu diesen Zeitpunkt nach fünftägiger Sporenkultur einen Sporenprozentsatz von im Mittel  $39,28 \pm 0,63$  %, mit einer nur geringen Variation in den zehn parallelen Sporenkulturen auf Malzagar (Tab. 2).

**Tabelle 2.**

Sporenprozentwerte von 10 Kontrollkulturen des Ausgangsstammes.

| Nr.    | % Sporen | Nr.     | % Sporen |                   |
|--------|----------|---------|----------|-------------------|
| 1..... | 40,0     | 6.....  | 38,8     |                   |
| 2..... | 38,4     | 7.....  | 37,6     | $M = 39,28$       |
| 3..... | 43,2     | 8.....  | 36,0     | $\sigma = 2,00$   |
| 4..... | 39,6     | 9.....  | 40,8     | $\sigma_M = 0,63$ |
| 5..... | 40,4     | 10..... | 38,0     |                   |

Dagegen variieren die entsprechende Werte der hundert Einzelzellkulturen von 0,0 % bis 89,6 % Sporen, derart allerdings, dass sich alle Kulturen in drei Gruppen einordnen lassen: (Tab. 3, Fig. 2.)

- 1) 0 % -Typ: Stämme mit keinen oder nur sehr wenig Sporen, im Mittel  $0,27 \pm 0,07$  % (77 Stämme).
- 2) 40 % -Typ: Stämme mit 30–40 % Sporen, im Mittel  $38,05 \pm 0,68$  % (16 Stämme).
- 3) 90 % -Typ: Stämme mit 80–90 % Sporen, im Mittel  $86,69 \pm 0,49$  % (7 Stämme).

Die Werte der drei Typen sind sehr deutlich voneinander verschieden, innerhalb der einzelnen Typen ist die Variation aber nur gering. Es ist demnach der Ausgangsstamm nichts anderes als eine Mischung dreier Rassen, die sich in der Sporenbildungsfähigkeit der Einzelkulturen voneinander unterscheiden. Damit lässt sich auch die Verschiebung der Sporenprozentzahl des Ausgangsstammes von 61,0 % (Tab. 1) nach 39,28 % (Tab. 2) zwangslos erklären: Zwischen beiden Bestimmungen liegt ein Zeitraum von fünf Monaten, während welcher der Stamm mehrmals überimpft worden ist. Durch Selektion der wenig sporulierenden Typen (des 40 % - und vor allem des 0 %-Typs) ist das Mischungsverhältnis der drei Typen verändert und damit die Sporenbildungsfähigkeit der Mischung herabgesetzt worden.

Tab. 4 und Fig. 3 zeigen die Sporenbildung je eines Vertreters der drei Sporulationstypen nach fünf Tagen (Werte nach Tab. 3) und nach 45 Tagen (Werte einer zweiten, unabhängigen Versuchsserie). Der Kurvenverlauf ist derselbe wie der früher für die Ausgangskultur festgestellte: Das Maximum der Sporenbildung wird

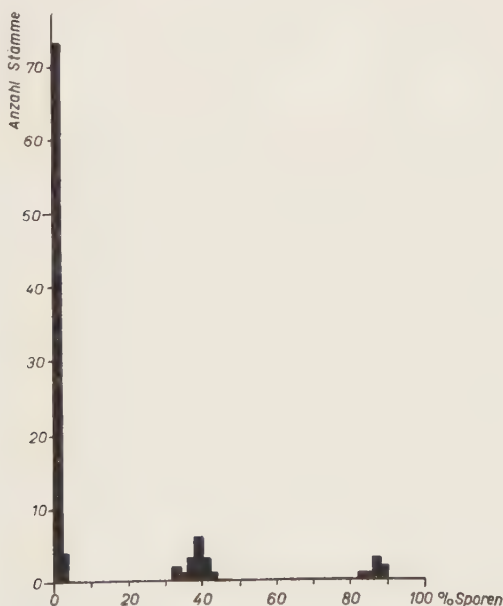


Fig. 2. Die Verteilung der verschiedenen Sporulationstypen innerhalb von 100 Einzelzellkulturen des Ausgangsstammes. — Abszisse: % Sporen. Ordinate: Anzahl von Einzelzellkulturen pro Klasse, bei einer Klassenbreite von 2 % Sporen. — Vgl. Tab. 3.

asymptotisch angenähert und ist nach fünf Tagen bereits weitgehend erreicht. Es wurde deshalb allen weiteren Sporenprozentzahlen der vorliegenden Untersuchung die Auszählung fünftägiger Sporenkulturen zugrundegelegt, wie dies auch für die Tabellen 2 und 3 geschehen ist.

Welches ist die Bedeutung dieser Resultate? Offensichtlich sind die beiden reich sporulierenden Rassen des 90 %o-Typs und des 40 %o-Typs homothallisch. Sie bestätigen die Beobachtungen BEIJERINCKS (1897, 1898), GUILLIERMONDS (1931) und LINDEGRENS (1945) über die Möglichkeit reicher Sporenbildung in Einzelkulturen von *Schizosaccharomyces*-Arten. Von besonderem Interesse ist das Auftreten zweier Rassen verschiedener Fertilität. Die Konstanz der Sporenbildung auf Malzagar, die sich in der geringen

**Tabelle 3.**

Sporenprozentwerte von 100 Einzelzellkulturen des Ausgangsstammes.

| Nr.       | % Sporen | Nr.       | % Sporen | Nr.       | % Sporen | Nr.       | % Sporen |
|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| Z 1.....  | 0,0      | Z 26..... | 39,6     | Z 51..... | 0,4      | Z 76....  | 0,4      |
| Z 2.....  | 0,0      | Z 27..... | 89,6     | Z 52..... | 0,0      | Z 77....  | 88,0     |
| Z 3.....  | 0,0      | Z 28..... | 0,0      | Z 53..... | 0,0      | Z 78....  | 0,0      |
| Z 4.....  | 0,0      | Z 29..... | 0,0      | Z 54..... | 0,0      | Z 79....  | 38,4     |
| Z 5.....  | 0,0      | Z 30..... | 0,0      | Z 55..... | 0,4      | Z 80....  | 36,8     |
| Z 6.....  | 41,2     | Z 31..... | 0,0      | Z 56..... | 38,4     | Z 81....  | 0,0      |
| Z 7.....  | 0,0      | Z 32..... | 36,4     | Z 57..... | 0,0      | Z 82....  | 2,0      |
| Z 8.....  | 0,0      | Z 33..... | 0,0      | Z 58..... | 0,0      | Z 83....  | 1,6      |
| Z 9.....  | 0,0      | Z 34..... | 32,8     | Z 59..... | 85,6     | Z 84....  | 0,0      |
| Z 10..... | 40,0     | Z 35..... | 0,0      | Z 60..... | 0,0      | Z 85....  | 0,4      |
| Z 11..... | 1,6      | Z 36..... | 0,0      | Z 61..... | 0,0      | Z 86....  | 38,8     |
| Z 12..... | 0,0      | Z 37..... | 0,0      | Z 62..... | 0,0      | Z 87....  | 0,0      |
| Z 13..... | 0,0      | Z 38..... | 86,8     | Z 63..... | 0,0      | Z 88....  | 0,0      |
| Z 14..... | 0,0      | Z 39..... | 1,6      | Z 64..... | 0,0      | Z 89....  | 0,0      |
| Z 15..... | 0,0      | Z 40..... | 0,0      | Z 65..... | 0,0      | Z 90....  | 0,0      |
| Z 16..... | 0,0      | Z 41..... | 40,8     | Z 66..... | 0,0      | Z 91....  | 0,0      |
| Z 17..... | 0,0      | Z 42..... | 87,2     | Z 67..... | 37,2     | Z 92....  | 38,0     |
| Z 18..... | 0,0      | Z 43..... | 0,0      | Z 68..... | 0,0      | Z 93....  | 1,6      |
| Z 19..... | 0,0      | Z 44..... | 0,0      | Z 69..... | 43,2     | Z 94....  | 0,0      |
| Z 20..... | 35,6     | Z 45..... | 0,0      | Z 70..... | 0,0      | Z 95....  | 3,2      |
| Z 21..... | 0,8      | Z 46..... | 2,4      | Z 71..... | 0,4      | Z 96....  | 0,0      |
| Z 22..... | 0,0      | Z 47..... | 0,0      | Z 72..... | 0,0      | Z 97....  | 0,0      |
| Z 23..... | 0,0      | Z 48..... | 0,0      | Z 73..... | 82,8     | Z 98....  | 33,6     |
| Z 24..... | 86,8     | Z 49..... | 1,2      | Z 74..... | 0,0      | Z 99....  | 2,4      |
| Z 25..... | 0,0      | Z 50..... | 0,0      | Z 75..... | 0,0      | Z 100.... | 38,4     |

$M = 12,36 \text{ }^0\text{/}_0$

**Tabelle 4.**

Die Entwicklung der drei Sporulationstypen in der Sporenkultur im Laufe von 45 Tagen. — Z 27: Stamm des 90 %-Typs. Z 6: Stamm des 40 %-Typs. Z 1: Stamm des 0 %-Typs.

| Tage nach Ansetzen der Sporenkultur | % Sporen |      |     |
|-------------------------------------|----------|------|-----|
|                                     | Z 27     | Z 6  | Z 1 |
| 5.....                              | 89,6     | 41,2 | 0,0 |
| 45.....                             | 90,4     | 43,2 | 1,4 |

Variation der Sporenprozentzahlen paralleler Kulturen äussert, ermöglicht eine äusserst scharfe Trennung der beiden Typen. Die Sporenkultur auf Gips hätte dies nie erlaubt. Es ist bekannt, wie ungleichmässig die Resultate von Gipsblockkulturen ausfallen.

Allgemein ist die Sporenbildung sehr von den Umweltbedingungen abhängig. Schon HANSEN und BEIJERINCK erkannten die sporulationsfördernde Wirkung nährstoffarmer, aber sauerstoffreicher Kulturverhältnisse. Seither sind manche Kulturmethode

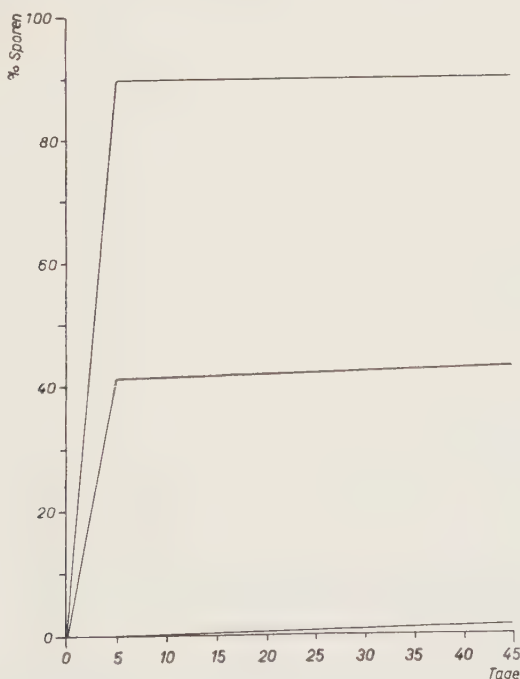


Fig. 3. Die Entwicklung der drei Sporulationstypen in der Sporenkultur im Laufe von 45 Tagen: a) 90 %-Typ (Z 27). b) 40 %-Typ (Z 6). c) 0 %-Typ (Z 1)

— Vgl. Tab. 4.

vorgeschlagen worden, um bei Hefen Sporenbildung hervorzurufen (vgl. LINDEGREN und LINDEGREN, 1944 a). Dass auch ganz bestimmte chemische Verbindungen stimulierend wirken können, haben neuerdings NICKERSON und THIMANN (1941, 1943) gezeigt. Sie fanden, dass sowohl ein Extrakt von *Aspergillus*, wie auch eine Kombination von Riboflavin und Natriumglutarat in *Zygosaccharomyces*-arten die Zellkopulationen und damit die Askusbildung sehr wesentlich begünstigen. — Um so überraschender ist die geringe Variation in den Sporenprozentzahlen der Agarkulturen. Im vorliegenden Falle ist die Differenz in der Sporenbildung des 90 % — und des 40 %-Typs mit Sicherheit genetisch und nicht durch unterschiedliche Versuchsverhältnisse bedingt. Derartige Unterschiede in der Fertilität verwandter Heferassen sind bekannt. Bei *Schizosaccharomyces Pombe* hat bereits BEIJERINCK (1897) zwei sporulierende Rassen mit deutlich verschiedener Fertilität isoliert, ohne aber diesen Befund durch Auszählungen statistisch zu belegen.

Was nun mit den Kulturen des 0 %-Typs? Die Tatsache, dass einige von ihnen noch zu einer bescheidenen Sporenbildung befähigt sind, könnte darauf schliessen lassen, dass es sich um beinahe bis völlig sterile Stämme handelt, die aus den gut sporulierenden, homothallischen Typen entstanden sind. Das Auftreten steriler Stämme in Laboratoriumskulturen mit ursprünglich reicher Sporenbildung ist lange bekannt und ist speziell für *Schizosaccharomyces octosporus* schon von BEIJERINCK beschrieben worden. Für Sterilität sprach denn auch ein Vorversuch der paarweisen Massenkombination dreier beliebig herausgegriffener Stämme des 0 %-Typs auf Malzagar: Es wurden in den drei möglichen Kombinationen so wenig Kopulationen beobachtet wie in den drei Einzelkulturen.

Ein Umstand aber liess sich mit der Annahme von Sterilität kaum in Einklang bringen: Die Tatsache nämlich, dass der Mittelwert der Sporenprozentzahlen der hundert Einzelzellkulturen mit 12,36 % sehr wesentlich vom Mittelwerte 39,28 % der zehn Kontrollkulturen des Ausgangsstammes abweicht. Die Stämme des 0 %-Typs sind in der Stichprobe von hundert Einzelstämmen der Ausgangskultur weit stärker vertreten, als bei einer mittleren Sporenbildung von 40 % zu erwarten ist. Dies lässt die Vermutung aufkommen, dass heterothallische Bedingungen im Spiele sein könnten, derart, dass wohl die isolierten Einzelzellkulturen nicht zur Kopulation befähigt wären, dass aber bestimmte Kombinationen die

Sporenbildung ermöglichen würden. Auf Grund dieser Ueberlegungen wurden zwei weitere Vorversuche angesetzt. Erstens wurden gleiche Mengen von Zellsuspensionen der ersten fünfzig Einzelzellkulturen der Tabelle 3 (je 1 cm<sup>3</sup>) in einer Massenkombination gründlich durchmischt und von der Mischung zehn parallele Sporenkulturen angesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst und zeigen, dass der Wiederaufbau der Ausgangskultur aus den stichprobenmässig herausgegriffenen Teilen durch einfache Kombination möglich ist, indem die künstliche Mischung wieder dieselbe Sporenbildungsfähigkeit aufweist, wie sie dem Ausgangsstamme zukommt.

**Tabelle 5.**

Sporenprozentwerte 10 paralleler Kulturen einer Massenkombination der 50 Einzelzellstämme Z 1 – Z 50  
(vgl. Tab. 3).

| Nr.     | % Sporen | Nr.      | % Sporen |                   |
|---------|----------|----------|----------|-------------------|
| 1 ..... | 40,4     | 6 .....  | 43,6     |                   |
| 2 ..... | 41,6     | 7 .....  | 39,6     | $M = 39,88$       |
| 3 ..... | 38,8     | 8 .....  | 41,2     | $\sigma = 2,82$   |
| 4 ..... | 44,0     | 9 .....  | 36,4     | $\sigma_M = 0,89$ |
| 5 ..... | 36,0     | 10 ..... | 37,2     |                   |

Die entsprechenden Mittelwerte stimmen sogar auffallend gut überein: 39,28 % für die Ausgangskultur, 39,88 % für die Mischung der Einzelzellkulturen. Auch eine grössere Mittelwertsdifferenz wäre, besonders in Anbetracht der Fehlermöglichkeiten in der Abmessung gleicher Zellmengen für die Massenkombination, unbedeutend. Diese Uebereinstimmung besagt, dass der niedere Mittelwert der Sporenprozentzahlen der Einzelzellstämme jedenfalls nicht durch eine Selektion des 0 %-Typs, etwa durch bedeutend höhere Keimfähigkeit seiner Zellen, zustandegekommen ist. Im Gegenteil entspricht das Verhältnis der drei Sporulationstypen unter den isolierten Einzelstämmen genau dem Mischungsverhältnis innerhalb der Ausgangskultur.

Damit erhält die Annahme, dass die Kombination mindestens eines Teiles der 0 %-Kulturen Sporen zu liefern vermöge, eine noch grössere Berechtigung. Die voraussichtliche mittlere Sporenbildung einer Massenkombination sämtlicher Stämme des 0 %-Typs aus den ersten 50 Einzelzellkulturen lässt sich aus den Werten der Tabelle 3 berechnen. Die 11 gut sporulierenden Stämme des 90 %- und 40 %-Typs bilden im Mittel 56,07 % Sporen. Damit in der Kombi-

nation sämtlicher 50 Stämme ein Mittelwert von 39,88 % erreicht werden kann, muss deshalb für die 39 Stämme des 0 %-Typs ein mittlerer Sporenprozentsatz von 35,31 % gefordert werden. — Diese Voraussage wurde in einem zweiten Versuche auf ihre Richtigkeit hin geprüft. Eine Massenkombination der 39 0 %-Stämme wurde auf Malzagar übertragen. Die Sporenbildung innerhalb von zehn parallelen Sporenkulturen ist in Tabelle 6 zur Darstellung gebracht. Die Ergebnisse verstärken den Verdacht, dass Heterothallie im Spiele sein müsse, bis zur Gewissheit: Die Kombination der in der isolierten Kultur nicht oder kaum sporulierenden Stämme führt im Mittel zu 34,52 % Sporen.

Welcher Art ist diese Heterothallie? Eine Antwort konnte von der paarweisen Kombination der verschiedenen Einzelzellkulturen des 0 %-Typs erwartet werden. Noch aufschlussreicher aber erschien das Studium von Einzelsporkulturen, da es gleichzeitig auch etwas über die Vererbungsweise der Heterothallie aussagen konnte. Bei Sterilität der 0 %-Stämme wäre vorauszusehen gewesen, dass

**Tabelle 6.**

Sporenprozentwerte 10 paralleler Kulturen einer Massenkombination von 39 Einzelzellstämmen des 0 %-Typs aus den 50 Einzelzellstämmen Z 1 — Z 50 (vgl. Tab. 3).

| Nr.    | % Sporen | Nr.     | % Sporen |                                                     |
|--------|----------|---------|----------|-----------------------------------------------------|
| 1..... | 37,2     | 6.....  | 30,4     | $M = 34,52$<br>$\sigma = 2,46$<br>$\sigma_M = 0,78$ |
| 2..... | 34,8     | 7.....  | 33,6     |                                                     |
| 3..... | 32,4     | 8.....  | 34,0     |                                                     |
| 4..... | 38,0     | 9.....  | 32,8     |                                                     |
| 5..... | 37,6     | 10..... | 34,4     |                                                     |

die Isolation von Einzelsporen aus einer Sporenkultur des Ausgangsstammes zu einer Selektion der reich sporulierenden Typen führte, da sich nur diese sexuell fortpflanzen könnten. Nun aber war zu erwarten, dass auch unter den Einzelsporkulturen alle drei Typen wieder auftreten würden. Die Auffindung neuer Typen auf Grund von Neukombinationen von Genen schien wenig wahrscheinlich, da solche sonst auch unter den Einzelzellkulturen hätten angetroffen werden müssen.

Die Ergebnisse der Auszählungen von 53 gekeimten Einzelsporkulturen aus 20 Asci der Ausgangskultur sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Sie entsprechen den Erwartungen vollauf.

**Tabelle 7.**

Sporenprozentwerte von 53 Einzelsporkulturen des Ausgangsstammes.

| Ascus Nr. | % Sporen |      |      |      |
|-----------|----------|------|------|------|
|           | a        | b    | c    | d    |
| 1.....    | ..       | 89,2 | ..   | ..   |
| 2.....    | 88,4     | 88,0 | 86,4 | ..   |
| 3.....    | ..       | 0,0  | ..   | ..   |
| 4.....    | 0,0      | 89,6 | ..   | ..   |
| 5.....    | 41,2     | 39,2 | 36,8 | ..   |
| 6.....    | 86,4     | ..   | ..   | ..   |
| 7.....    | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |
| 8.....    | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |
| 9.....    | 43,2     | ..   | ..   | ..   |
| 10.....   | 0,0      | 0,0  | ..   | ..   |
| 11.....   | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |
| 12.....   | 91,2     | 88,8 | 89,6 | 90,0 |
| 13.....   | 0,0      | 0,0  | 0,0  | ..   |
| 14.....   | ..       | 42,4 | ..   | ..   |
| 15.....   | 0,0      | 0,0  | ..   | 0,8  |
| 16.....   | 0,4      | 0,0  | ..   | 0,0  |
| 17.....   | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |
| 18.....   | 40,4     | ..   | ..   | ..   |
| 19.....   | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |
| 20.....   | 0,0      | 0,0  | 0,0  | 0,0  |

Alle Kulturen lassen sich in die bereits bekannten drei Sporulationstypen scheiden. Der 0 %-Typ ist wieder der am häufigsten vertretene. Jeder Ascus (mit einer Ausnahme) zeigt nur Einzelsporkulturen desselben Typs, was darauf deutet, dass die Kopulationen normalerweise stets zwischen Zellen gleichen Typs verlaufen, wobei der Sporulationstyp unverändert an die Nachkommen vererbt wird. Ein Ascus mit vier Einzelsporkulturen des 90 %-Typs ist als Produkt der Kopulation zweier Zellen des 90 %-Typs anzusehen, während ein Ascus mit vier 0 %-Stämmen offenbar durch die Kopulation zweier Zellen des 0 %-Typs entstanden ist. Während aber im Falle der homothallischen Typen genetisch identische Zellen miteinander kopulieren können, darf bei den als heterothallisch anzusehenden 0 %-Stämmen eine Scheidung in genetisch verschiedene Geschlechtstypen vermutet werden. Im einfachsten Falle eines bipolaren, monohybriden Vererbungsschemas wäre zu erwarten, dass die Kopulationen innerhalb des 0 %-Typs sich zwischen je einer Zelle des einen und einer Zelle des andern zweier ent-

gegengesetzter Geschlechter oder Paarungstypen abspielten, und dass die beiden Paarungstypen im Ascus in einem einfachen 2:2-Verhältnis wieder aufspalten müssten.

Um die letzte Annahme nachzuprüfen, wurden die vier Einzelsporkulturen des 0%-Typs aus den Ascus Nr. 7 in den sechs möglichen, paarweisen Massenkombinationen zu gleichen Teilen (je 1 cm<sup>3</sup> vier Tage alter, gut durchgeschüttelter Bierwürzekulturen) gemischt, und von den sechs Kombinationen wurde je eine Sporenkultur auf Malzagar angesetzt. Tabelle 8 zeigt die Resultate der Auszählungen nach fünf Tagen: Die Kombinationen 7 a × 7 b, 7 a × 7 d, 7 b × 7 c, 7 c × 7 d geben Sporen in grosser Zahl, dagegen bleiben die Kombinationen 7 a × 7 c und 7 b × 7 d völlig steril. Diese Verhältnisse finden ihre klare und eindeutige Erklärung in der Postulierung eines bipolaren Kombinationsschemas. Die Kulturen 7 a und 7 c gehören dem einen, die Kulturen 7 b und 7 d dem anderen zweier nur physiologisch unterschiedener, isogamer Geschlechter oder »Paarungstypen« an. Sie seien mit »+« und »-« bezeichnet,

**Tabelle 8.**

Sporenprozentwerte eines Kombinationsversuches mit den vier Einzelsporkulturen eines Ascus des 0%-Typs (Ascus Nr. 7, vgl. Tab. 7), nach Massenkombinationen zwischen je zwei der vier Stämme.

| Kombination    | % Sporen | Kombination    | % Sporen |
|----------------|----------|----------------|----------|
| 7 a × 7 b..... | 34,0     | 7 b × 7 c..... | 39,2     |
| 7 a × 7 c..... | 0,0      | 7 b × 7 d..... | 0,0      |
| 7 a × 7 d..... | 34,8     | 7 c × 7 d..... | 41,6     |

und es werde für den Stamm 7 a der Typ + festgelegt. Damit ergibt sich folgende Verteilung im Ascus: 7 a = +, 7 b = -, 7 c = +, 7 d = -, d. h. eine 2:2-Aufspaltung, wie sie einem monohybriden Erbschema entspricht. Für die Ausbildung des Geschlechts muss ein einfaches Allelenpaar verantwortlich sein.

Die Ausdrücke »isogame Geschlechter« und »Paarungstypen« tragen den vorliegenden Verhältnissen beide in ebenso guter Weise Rechnung. Manche Biologen ziehen die Bezeichnung »Paarungstyp« vor, da sie Ausdrücke wie »Geschlecht« und »Geschlechter« auf die Fälle morphologischer Unterscheidbarkeit in männliche und weibliche Ausbildung beschränkt wissen möchten. Da aber bekannt ist, wie gleitend die Uebergänge von Isogamie über Anisogamie

zu Oogamie z. B. bei Algen sind, und dass sich isogame Formen oft durch Kombination mit männlichen und weiblichen Formen als männlich und weiblich identifizieren lassen, erscheint eine derartige Einschränkung auf Grund sekundärer Merkmale etwas willkürlich und zufällig. Doch soll der Ausdruck »Paarungstypen« trotzdem beibehalten werden, da er sich in der genetischen Hefeliteratur bereits eingebürgert hat.

**Tabelle 9.**

Resultate eines Kombinationsversuches mit den acht Einzelsporkulturen zweier Asci des 0%-Typs (Ascus Nr. 7 und Nr. 17, vgl. Tab. 7), nach Massenkombinationen zwischen je zwei der acht Stämme. K = Kopulationen in grosser Zahl, o = keine oder nur sehr wenige Kopulationen.

| Nr. | Nr.     | 7a | 7b | 7c | 7d | 17a | 17b | 17c | 17d |
|-----|---------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|
|     |         | +  | —  | +  | —  | +   | +   | —   | —   |
| 7a  | } ..... | o  | K  | o  | K  | o   | o   | K   | K   |
| +   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 7b  | } ..... | .. | o  | K  | o  | K   | K   | o   | o   |
| —   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 7c  | } ..... | .. | .. | o  | K  | o   | o   | K   | K   |
| +   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 7d  | } ..... | .. | .. | .. | o  | K   | K   | o   | o   |
| —   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 17a | } ..... | .. | .. | .. | .. | o   | o   | K   | K   |
| +   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 17b | } ..... | .. | .. | .. | .. | ..  | o   | K   | K   |
| +   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 17c | } ..... | .. | .. | .. | .. | ..  | ..  | o   | o   |
| —   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |
| 17d | } ..... | .. | .. | .. | .. | ..  | ..  | ..  | o   |
| —   |         |    |    |    |    |     |     |     |     |

Dass das gefundene bipolare, monohybride Erbschema für alle aus dem Ausgangsstamme isolierten Asci Gültigkeit hat, zeigen (soweit die Sporen eines Askus in genügender Zahl gekeimt sind) die Tabellen 9 und 10. Tabelle 9 beschreibt die Resultate einer paarweisen Durchkombination der acht Einzelsporkulturen der beiden Asci Nr. 7 und Nr. 17 in allen möglichen Verbindungen. Mit »K« bzw. »o« ist für die Sporenkultur jeder Massenkombination die Bildung von Kopulationen und Sporen in grosser Zahl bzw. das Fehlen von Kopulationen und Sporen angegeben. Wenn auch, wie

bereits in einem Teil der heterothallischen Einzelkulturen, in einzelnen mit »0« bezeichneten Kombinationen einige wenige Kopulationen und Asci nachgewiesen werden können, so ist doch der Unterschied zwischen den beiden Reaktionsweisen (K = 30–40 % Sporen, 0 = 0 bis höchstens ca. 3 % Sporen) äusserst scharf, so dass ein Zweifel nie aufkommen kann. — Tabelle 10 zeigt die Verteilung der beiden Paarungstypen + und – in den übrigen Asci des 0 % - Typs, nach Testung der Einzelsporkulturen mit der + - Kultur 7 a und der - - Kultur 7 b. Jede der geprüften Kulturen reagiert mit dem

**Tabelle 10.**

Die Verteilung der heterothallischen Paarungstypen + und – innerhalb von 37 Einzelsporkulturen des 0 % - Typs (vgl. Tab. 7), nach Massenkombinationen mit den heterothallischen Teststämmen 7 a (Paarungstyp +) und 7 b (Paarungstyp –).

| Nr.       | 7a<br>+ | 7b<br>— | Typ | Nr.       | 7a<br>+ | 7b<br>— | Typ |
|-----------|---------|---------|-----|-----------|---------|---------|-----|
| 3a .....  | ..      | ..      | ..  | 13a ..... | o       | K       | +   |
| 3b .....  | o       | K       | +   | 13b ..... | K       | o       | —   |
| 3c .....  | ..      | ..      | ..  | 13c ..... | o       | K       | +   |
| 3d .....  | ..      | ..      | ..  | 13d ..... | ..      | ..      | ..  |
| 4a .....  | K       | o       | —   | 15a ..... | o       | K       | +   |
| 4b .....  | ..      | ..      | ..  | 15b ..... | K       | o       | —   |
| 4c .....  | ..      | ..      | ..  | 15c ..... | ..      | ..      | ..  |
| 4d .....  | ..      | ..      | ..  | 15d ..... | o       | K       | +   |
| 7a .....  | o       | K       | +   | 16a ..... | o       | K       | +   |
| 7b .....  | K       | o       | —   | 16b ..... | K       | o       | —   |
| 7c .....  | o       | K       | +   | 16c ..... | ..      | ..      | ..  |
| 7d .....  | K       | o       | —   | 16d ..... | K       | o       | —   |
| 8a .....  | K       | o       | —   | 17a ..... | o       | K       | +   |
| 8b .....  | o       | K       | +   | 17b ..... | o       | K       | +   |
| 8c .....  | o       | K       | +   | 17c ..... | K       | o       | —   |
| 8d .....  | K       | o       | —   | 17d ..... | K       | o       | —   |
| 10a ..... | K       | o       | —   | 19a ..... | K       | o       | —   |
| 10b ..... | o       | K       | +   | 19b ..... | o       | K       | +   |
| 10c ..... | ..      | ..      | ..  | 19c ..... | K       | o       | —   |
| 10d ..... | ..      | ..      | ..  | 19d ..... | o       | K       | +   |
| 11a ..... | o       | K       | +   | 20a ..... | K       | o       | —   |
| 11b ..... | K       | o       | —   | 20b ..... | o       | K       | +   |
| 11c ..... | o       | K       | +   | 20c ..... | o       | K       | +   |
| 11d ..... | K       | o       | —   | 20d ..... | K       | o       | —   |

**Tabelle 11.**

Die Verteilung von heterothallischen und sterilen Stämmen in 39 Einzelzellkulturen des 0%-Typs (vgl. Tab. 3), nach Massenkombinationen mit den heterothallischen Teststämmen 7 a (Paarungstyp +) und 7 b (Paarungstyp -)

| Nr.       | 7a<br>+ | 7b<br>— | Typ    | Nr.       | 7a<br>+ | 7b<br>— | Typ    |
|-----------|---------|---------|--------|-----------|---------|---------|--------|
| Z 1.....  | o       | K       | +      | Z 28..... | K       | o       | —      |
| Z 2.....  | K       | o       | —      | Z 29..... | K       | o       | —      |
| Z 3.....  | o       | o       | steril | Z 30..... | K       | o       | —      |
| Z 4.....  | o       | K       | +      | Z 31..... | o       | K       | +      |
| Z 5.....  | o       | o       | steril | Z 33..... | o       | K       | +      |
| Z 7.....  | K       | o       | —      | Z 35..... | o       | o       | steril |
| Z 8.....  | o       | K       | +      | Z 36..... | K       | o       | —      |
| Z 9.....  | o       | K       | +      | Z 37..... | o       | o       | steril |
| Z 11..... | o       | K       | +      | Z 39..... | o       | K       | +      |
| Z 12..... | o       | o       | steril | Z 40..... | K       | o       | —      |
| Z 13..... | K       | o       | —      | Z 43..... | K       | o       | —      |
| Z 14..... | K       | o       | —      | Z 44..... | K       | o       | —      |
| Z 15..... | o       | K       | +      | Z 45..... | K       | o       | —      |
| Z 16..... | o       | K       | +      | Z 46..... | o       | K       | +      |
| Z 17..... | o       | K       | +      | Z 47..... | K       | o       | —      |
| Z 18..... | o       | K       | +      | Z 48..... | K       | o       | —      |
| Z 19..... | o       | K       | +      | Z 49..... | o       | K       | +      |
| Z 21..... | o       | K       | +      | Z 50..... | o       | K       | +      |
| Z 22..... | K       | o       | —      |           |         |         |        |
| Z 23..... | o       | o       | steril |           |         |         |        |
| Z 25..... | o       | K       | +      |           |         |         |        |

einen (K), nicht aber mit dem andern (o) der beiden Teststämmen. Soweit die Asci vollständig ausgekeimt sind, wird stets eine 2:2-Aufspaltung in + und — beobachtet. Dieser Befund gilt auch für alle später im Laufe dieser Arbeit nachgewiesenen +: — - Aufspaltungen, wie aus Tabelle 12 zu entnehmen ist.

In derselben Weise wie die Einzelsporkulturen des 0%-Typs wurden auch die aus dem Ausgangsstamme isolierten Einzelzellkulturen des 0%-Typs mit 7 a (+) und 7 b (—) getestet. Die Resultate sind für die ersten 50 Kulturen der Tabelle 3 in Tabelle 11 dargestellt. Neben den beiden zu erwartenden, heterothallischen Paarungstypen + und — treten hier auch einige wenige Stämme auf, die — selbst nach Wiederholung des Experimentes in einer neuen Versuchsserie — weder mit dem einen noch mit dem andern Paar-

ungstyp reagieren und deshalb offenbar als steril zu bezeichnen sind. Dies braucht nicht zu verwundern, sind doch sterile Stämme gerade bei Pilzen eine wohlbekannte Erscheinung.

Auf zwei Eigentümlichkeiten sei hier noch speziell hingewiesen, da sie uns in den folgenden Kapiteln näher beschäftigen werden: 1) In einem Falle ist in einem Ascus aus der Sporenkultur des Ausgangsstammes offensichtlich eine Aufspaltung in eine heterothallische Kultur des Paarungstyps — und eine homothallische Kultur des 90 % - Typs aufgetreten, nämlich im Ascus Nr. 4 der Tabellen 7 und 10. Leider sind nur die beiden Einzelsporkulturen 4 a und 4 b gekeimt. — 2) Es ist bereits festgestellt worden, dass einzelne Kulturen des 0 % - Typs zu schwacher Sporenbildung befähigt sind (höchstens 2–3 %) .Die Nachprüfung der Tabellen 3 und 11 ergibt, dass dies nur für einzelne der heterothallischen + - Kulturen gilt, nicht aber für die Kulturen des Paarungstyps — sowie für die sterilen Kulturen. Der Vergleich paralleler Malzagarkulturen derselben + - Stämme lehrt, dass die Erscheinung nicht für bestimmte dieser Stämme konstant ist, sondern in geringerem oder stärkerem Masse bald im einen, bald im anderen Stamme beobachtet wird und für den einzelnen Stamm von 0,0 % bis ca. 3 % variiert. — Diese Ausnahmen von den gefundenen Gesetzmässigkeiten werden weiter unten eingehender behandelt werden.

#### d) Der Kopulationsverlauf.

Ueber den Kopulationsverlauf bei *Schizosaccharomyces* - arten lagen schon frühzeitig Beobachtungen vor. Für *Sch. octosporus* gab bereits SCHJØNNING (1895) an, dass sich die Kopulationen stets zwischen Schwesterzellen abspielten, d. h. zwischen den Teilprodukten einer vegetativen Teilung. Diese Schwesterzellkopulationen sind dann vor allem von GUILLIERMOND (1901, 1903, 1905) an *Sch. octosporus*, *Sch. Pombe* und *Sch. mellacei* eingehender untersucht worden. GUILLIERMOND hat festgestellt, dass die Schwesterzellkopulationen wohl den vorherrschenden Kopulationsmodus darstellen, dass aber doch auch oft räumlich voneinander getrennte Zellen miteinander kopulieren können, ohne dass eine direkte Abstammung von ein und derselben Mutterzelle vorliegt.

Es liegt auf der Hand, dass für die Kopulation zwischen heterothallischen Zellen entgegengesetzten Paarungstyps die Verschmelzung von Schwesterzellen nicht in Frage kommen kann. Dagegen liegt diese Art der Kopulation für die beiden homothallischen Typen —

den 90 %- und den 40 %-Typ — durchaus im Bereiche des Möglichen. Sie würde die Homothallie dieser Rassen sogar noch besonders unterstreichen, da ja für die beiden Tochterzellen, die durch einfache vegetative Teilung aus einer gemeinsamen Mutterzelle entstanden sind, die genetische Identität besonders in die Augen fällt.

Zur Untersuchung des Kopulationsverlaufes in den verschiedenen Typen wurde die Fähigkeit von *Schizosaccharomyces Pombe* ausgenützt, bereits im hängenden Bierwürzetröpfchen in der feuchten Kammer Kopulationen und Sporen zu bilden. Als feuchte Kammern wurden die von WINGE (1935) beschriebenen Operationskammern verwendet. Von der zu untersuchenden, frischen Bierwürzekultur wird mittels der Platinöse ein kleines Tröpfchen der Zellsuspension an der Unterseite des Deckglases der feuchten Kammer angebracht. Dann wird die Kammer für die Dauer der Beobachtungen bei 25° C gehalten und für ca. 12 Stunden sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit haben sich die Zellen der Kultur bereits wesentlich vermehrt, und es beginnen die ersten Kopulationen. Nun werden einzelne Gruppen weniger Zellen mittels des Mikromanipulators aus dem Tröpfchen herausgezogen und in nächster Nähe des Tröpfchenrandes angebracht. Sie sollen hierbei in nicht mehr Bierwürze zu liegen kommen, als eben notwendig ist, um die Zellen in einer einzigen Schicht ausgebreitet und in ihrer Lage möglichst fixiert zu erhalten. Eine schmale Flüssigkeitsverbindung mit dem nahen Tröpfchenrande muss weiter gewährleisten, dass die Zellen trotzdem nicht austrocknen und eine genügende Zufuhr neuer Nährlösung geniessen. Diese Technik erlaubt, das Wachstum und den Kopulationsverlauf innerhalb einzelner Zellgruppen unmittelbar verfolgen zu können, da sich die Zellen bei gleichbleibender Feuchtigkeit innerhalb der Kammer kaum verschieben und die Lage in einer einzigen Zellschicht stets klare Bilder gibt. Weiter besteht stets die Möglichkeit, allfällig interessierende Asci während der Beobachtungen zu isolieren und die Einzelsporen innerhalb derselben Operationskammer in frischen Bierwürzetröpfchen zur Keimung zu bringen. Wünscht man die Entwicklung der Kultur über Nacht zu verlangsamen, um nicht die ganze Zeit am Mikroskop verbringen zu müssen, so genügt das Uebertragen der feuchten Kammern aus 25° C in 10–15° C. Tieferere Temperaturen sind nicht zu empfehlen, da der Temperaturwechsel leicht auch einen Wechsel des Feuchtigkeitsgehaltes innerhalb der feuchten Kammer und damit die Gefahr

der Ueberschwemmung oder des Austrocknens der untersuchten Zellgruppe mit sich bringt.

Für die Beobachtung der Entwicklung von Zellkombinationen zweier verschiedener Stämme (beispielsweise von der Mischung je einiger Zellen eines heterothallischen + - und - - Stammes) müssen die beiden Zellsorten zu Beginn der Untersuchungen zytologisch unterscheidbar gemacht werden. Dies geschieht leicht dadurch, dass der eine Stamm vorher in Bierwürze, der andere auf Malzagar gezogen wird. Die verschiedene Art der Aufzucht bedingt ein völlig verschiedenes Aussehen der Zellen, sodass in einer frisch angesetzten Mischung der beiden Zellsorten die Zugehörigkeit jeder Zelle mit Leichtigkeit identifiziert werden kann: die Bierwürzezellen nach der zylindrischen Form mit abgerundeten Ecken und der hyalinen Beschaffenheit des Cytoplasmas, die Malzagarzellen nach der ovalen Zellform sowie der körnigen Struktur des Cytoplasmas. Der Unterschied verliert sich in der Tröpfchenkultur in Bierwürze nach wenigen Stunden, indem die Zellen aus Bierwürze ebenfalls die Form und Beschaffenheit der Malzagarzellen annehmen, doch lässt sich durch sorgfältige Verfolgung der Zellteilungen vom Beginn der Versuche an in jedem Augenblicke angeben, welches die Abstammung einer jeden Zelle ist.

In dieser Weise sind die Figuren 4 und 5 entstanden. Fig. 4 beschreibt den Kopulationsverlauf in einem homothallischen Stamme des 90 %-Typs (Einzelzellkultur Nr. Z 27). Die Sporenkultur im hängenden Tröpfchen wurde am 4. Mai morgens um 03<sup>30</sup> angesetzt. Abb. a zeigt nachmittags um 17<sup>06</sup> eine Gruppe von Zellen, die teilweise eben in Teilung begriffen sind; in zwei Fällen sind bereits Kopulationen eingetreten: c—c und d—d, und in beiden Fällen hat die Beobachtung der vorhergehenden Stadien ergeben, dass die Kopulation zwischen zwei Schwesterzellen vor sich gegangen ist. Man beachte das weitere Verhalten etwa der Zelle p. Sie hatte um halb fünf Uhr begonnen, ein Querwand auszubilden. In Abb. a ist, diese noch sichtbar. Eine Viertelstunde später (Abb. b) haben sich die beiden Zellhälften bereits voneinander getrennt, so aber, dass sie zueinander in einem Winkel liegen und am einen Ende noch zusammenstossen. Dieses Bild ist für frisch geteilte Zellen charakteristisch. Die sorgfältige Beobachtung zeigt, dass das Auseinanderbrechen der beiden Zellhälften einer Zelle mit Querwand plötzlich vor sich geht, sobald einmal die Spannung innerhalb der sich teilenden Zelle genügend gross geworden ist. — Abb. c ist weitere 25 Minuten

später gezeichnet worden und zeigt, dass die beiden Schwesterzellen p-p bereits zu kopulieren beginnen. Diese Kopulation wird in den folgenden zwei bis drei Stunden stets deutlicher (Abb. d bis



Fig. 4. Der Kopulationsverlauf in einem homothallischen Stamme des 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-Typs (Z 27).

a) 4. Mai 17<sup>00</sup>. b) 17<sup>21</sup>. c) 17<sup>46</sup>. d) 19<sup>15</sup>. e) 21<sup>43</sup>. f) 23<sup>00</sup>. g) 5. Mai 03<sup>43</sup>.  
h) 8. Mai 09<sup>00</sup>.

f), und in den frühen Morgenstunden des nächsten Tages zeigt eine Kontrolle um 03<sup>43</sup>, dass die Reduktionsteilung zur Bildung der vier Ascosporen geführt hat. Ein anderes Beispiel: Die Entwicklung der Zelle v. Noch 17<sup>46</sup> ist die Zelle ungeteilt (Abb. c), 19<sup>15</sup> ist die Querteilung deutlich (Abb. d), 21<sup>43</sup> ist die Teilung vollendet (Abb. e), 23<sup>00</sup> hat die Kopulation der beiden Schwesterzellen begonnen (Abb. f), und am nächsten Morgen früh um 03<sup>43</sup> ist die Kopulation vollständig (Abb. g); Sporen wurden in diesem Falle um 07<sup>27</sup> erstmals festgestellt. — Derselbe Kopulationsverlauf lässt sich aus Fig. 4<sub>v</sub> für die Zellen m, g, i, und o entnehmen. — Die Kultur wurde fortlaufend weiter beobachtet bis am 8. Mai morgens 09<sup>00</sup>, also während insgesamt über vier Tagen. Abb. h zeigt die letzte der angefertigten Zeichnungen. Es sind total 40 Kopulationen eingegangen worden, von denen ein grosser Teil in Asci übergegangen ist. Vier dieser Asci sind bereits in die freien Einzelsporen zerfallen. Nach den üblichen Methoden ausgezählt (Kopulationen und Asci zu vier Sporen gerechnet), wird ein Sporenprozentsatz von 84,2 % erhalten. Von den 40 festgestellten Kopulationen sind 39 nach dem Schwesterzellschema und nur eine zwischen zwei nicht direkt verwandten Zellen verlaufen.

Es ist demnach die Kopulation von Schwesterzellen tatsächlich die vorwiegende Kopulationsweise innerhalb des homothallischen 90 %-Typs. Sie wurde in gleicher Häufigkeit auch innerhalb des 40 %-Typs nachgewiesen. Die Kulturen in der feuchten Kammer zeigen dasselbe Verhalten, nur ist die Gesamtzahl der Kopulationen entsprechend der geringeren Sporenzahl wesentlich niedriger. In einzelnen homothallischen Kulturen kann der Prozentsatz von Nicht-Schwesterzellkopulationen auch grösser sein als im beschriebenen Beispiel des Stammes Z 27, doch herrscht die Schwesterzell-Kopulationsweise stets weitaus vor.

Anders in der Kombination zweier heterothallischer Stämme entgegengesetzten Paarungstyps. Fig. 5 zeigt eine Anzahl von Stadien der Entwicklung einer Gruppe von Zellen, die teilweise der Einzelsporkultur Nr. 7 a (Paarungstyp +, grau angegeben) und zum anderen Teile der Einzelsporkultur 7 b (Paarungstyp —, weiss angegeben) angehören. Die Zugehörigkeit der Zellen, die sich in ihrer Grösse zu diesem Zeitpunkt nur noch wenig unterscheiden, wurde durch genaue Verfolgung jeder einzelnen Zellteilung von Beginn an sichergestellt. Wie einleitend beschrieben, wurden die Zellen der beiden Stämme anfangs durch verschiedene Vorkultur (7 a auf Malzagar,

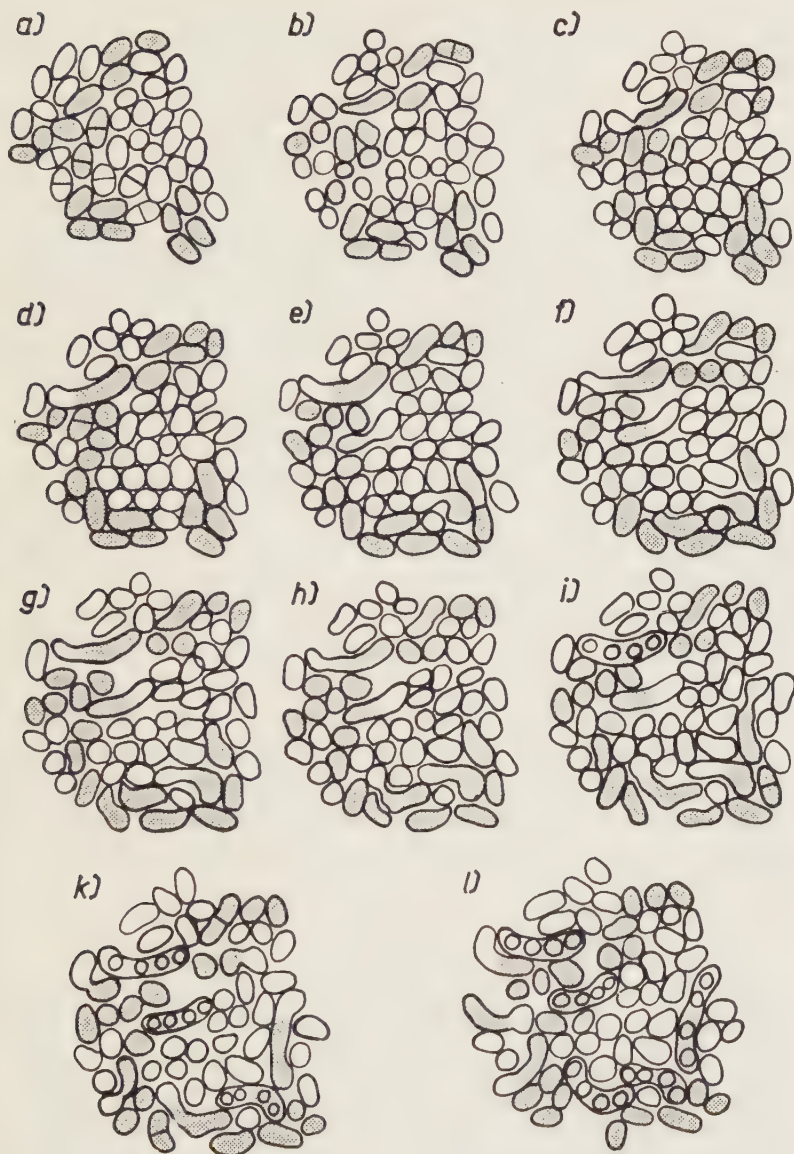


Fig. 5. Der Kopulationsverlauf in einer Kombination zweier heterothallischer Stämme entgegengesetzten Paarungstyps (grau: 7a, Paarungstyp +; weiss: 7b, Paarungstyp —).

a) 11. Mai 13<sup>00</sup>. b) 15<sup>07</sup>. c) 15<sup>27</sup>. d) 16<sup>00</sup>. e) 17<sup>00</sup>. f) 19<sup>30</sup>. g) 20<sup>30</sup>. h) 21<sup>30</sup>. i) 23<sup>30</sup>.  
k) 12. Mai 02<sup>30</sup>. l) 13. Mai 09<sup>30</sup>.

7 b in Bierwürze) unterschieden. Die Kultur wurde mit je vier Zellen der beiden Stämme am 10. Mai um 19<sup>30</sup> begonnen. Abb. a zeigt die Kultur am folgenden Tage um 13<sup>00</sup>. Die ursprünglichen Bierwürzezellen sind mit einer erhöhten Teilungsenergie in die Sporenkultur eingegangen und haben bereits fast doppelt so viel Zellen gebildet, als die Zellen des ursprünglich auf Malzagar gezogenen Stammes, und sind entsprechend auch kleiner. Kopulationen werden noch keine beobachtet. Zwei Stunden später ergibt die Kontrolle, dass eine Zelle des +-Stammes unter Bildung eines Kopulationsfortsatzes auf eine Zelle des --Stammes zuzuwachsen beginnt. Um 15<sup>37</sup> ist die Kopulation eingetreten (Abb. c), 25 Minuten später ist sie bereits vollständig. Die Sporen werden erstmals um 23<sup>30</sup> beobachtet. — Derselbe Kopulationsverlauf gilt auch für die übrigen sieben, bis um 09<sup>30</sup> am 13. Mai beobachteten Kopulationen und selbst für einige nur begonnene, aber nicht geglückte Kopulationen: Stets sind es, der Erwartung entsprechend, zwei Zellen entgegengesetzten Paarungstyps, die miteinander kopulieren (resp. den Versuch einer Kopulation eingehen), und übereinstimmend damit sind Schwesterzellkopulationen hier nicht zu beobachten. Eigentümlicherweise ist es stets auch der +-Gamet, der als der aktive erscheint, während der --Gamet passiv bleibt: Es sind die Zellen des Paarungstyps +, die unter Bildung eines kleinen Kopulationsfortsatzes auf die --Zellen zuwachsen. Ob dies tatsächlich eine Andeutung von Anisogamie zu bedeuten hat, oder ob nicht vielmehr die verschiedene Vorbehandlung der beiden Paarungstypen das verschiedene Verhalten bedingt, wurde noch nicht näher untersucht, doch erscheint das letztere wahrscheinlicher.

#### e) Zusammenfassung.

Es ist nachgewiesen worden, dass der aus Holland bezogene Ausgangsstamm von *Schizosaccharomyces Pombe* keineswegs einheitlicher Natur ist, sondern eine Mischung aus zwei homothallischen Rassen verschiedener Fertilität, zwei Paarungstypen einer heterothallischen Rasse, und einer sterilen Rasse darstellt. Die Abbildungen der Tafeln I und II sind mikroskopische Aufnahmen eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27), eines heterothallischen Stammes des Paarungstyps — (19 a), eines heterothallischen Stammes des Paarungstyps + (19 b), sowie der Massenkombination beider heterothallischen Stämme (19 a × 19 b), nach viertägiger Kultur auf Malzagar. Der homothallische Stamm fällt

durch viele Asci regelmässiger Form, die Kombination der heterothallischen Paarungstypen durch die mehr oder weniger unregelmässige Form ihrer Asci auf. Wie das Studium des Kopulationsverlaufes in den verschiedenen Typen lehrt, hängt dies damit zusammen, dass sich in den homothallischen Typen die Kopulationen vorwiegend zwischen Schwesterzellen abspielen, während in der Kombination der beiden heterothallischen Paarungstypen naturgemäss stets Nicht-Schwesterzellen kopulieren. Man beachte, dass die Abbildung des isolierten heterothallischen  $+$ -Stammes eine Kopulation und einige Sporen zeigt – eine Eigentümlichkeit des Paarungstyps  $+$ , auf die bereits hingewiesen worden ist und die ihre Erklärung weiter unten finden wird.

Eigentümlicherweise unterscheiden sich die fünf verschiedenen, aus dem Ausgangsstamme isolierten Geschlechtstypen in der Form der Riesenkultur auf Bierwürzgelatine keineswegs, trotzdem die Hefen gerade in der Ausbildung der Riesenkultur im allgemeinen fein auf mutative Aenderungen reagieren. Von allen fünf Typen wie auch von der Kombination der beiden heterothallischen Paarungstypen wurden je 20 Riesenkulturen angesetzt und bei 15°C gehalten. Selbst nach zwei Monaten liessen sich keine wesentlichen Unterschiede in der Kulturform nachweisen, und dies trotzdem die mikroskopische Kontrolle von Zellmaterial aus den verschiedenen Kulturen ergab, dass die homothallischen Formen sowie die heterothallische Kombination Sporen gebildet hatten.

## II. DIE KREUZUNGEN

### *a) Das Problem der Praereduktion und Postreduktion.*

Die früheren zytologischen Befunde bei höheren Pflanzen hatten zur Annahme geführt, dass im Pflanzenreiche stets nur Praereduktion, also Reduktion im ersten meiotischen Teilungsschritte erfolge. FUNKE (1924) konnte auf Grund tetradenalytischer Untersuchungen über die tetrapolare Sexualität von Basidiomyceten erstmals zeigen, dass auch die Postreduktion von Genen möglich sein muss, indem er feststellte, dass aus einer Basidie nicht nur zwei Genotypen (AB, AB, ab, ab, resp. Ab, Ab, aB, aB), sondern auch alle vier Genotypen (AB, Ab, aB, ab) herausspalten können. HANNA (1925), BRUNSWIK (1926), NEWTON (1926 b) und KNIPE (1929) kamen bei anderen Basidiomyceten zum selben Resultate. 1928 zog BURGEFF aus Aufspaltungsergebnissen bei *Phycomyces*

*Blacesleeanus* den Schluss, dass die Reduktion hier vorwiegend im zweiten Teilungsschritte erfolge. Zur Erklärung der Verhältnisse bei dem Ascomyceten *Neurospora tetrasperma* hat DODGE (1927) die Möglichkeit von Postreduktion der Geschlechtsgene in Betracht gezogen. Für *N. sitophila* fand WILCOX (1928) auf Grund der Reihenfolge der geschlechtsverschiedenen Sporen innerhalb des Ascus, dass die beiden Geschlechtsgene postreduzieren müssen. Die weiteren Untersuchungen von DODGE (1929) und LINDEGREN (1932) zeigten für *N. sitophila* und *N. crassa*, dass sowohl Prae- wie auch Postreduktion der Geschlechtsgene beobachtet wird. Bei Brandpilzen hat HÜTTIG (1931) das Vorkommen beider Reduktionsarten nachgewiesen.

Aus all diesen Ergebnissen wurde ohne weiteres gefolgert, dass in diesen Fällen von Postreduktionen von Genen die Chromosomen selbst postreduktionell verteilt worden seien, indem die erste meiotische Teilung die Schwesterchromatiden und erst die zweite Teilung die homologen Chromatiden getrennt habe. In Fällen der Reduktion eines Genpaares im ersten und eines zweiten Allelenpaares im zweiten Teilungsschritte wurde die Erklärung darin gesucht, dass die beiden Genpaare auf zwei verschiedenen Chromosomen liegen sollten, wovon das eine Chromosomenpaar prae-, das andere postreduzierte. Eigentümlicherweise kam man nicht auf den Gedanken, das Vorkommen von crossing-over für die Postreduktion von Genpaaren verantwortlich zu machen, trotzdem es sehr wohl möglich ist, dass von zwei im selben Chromosom gelegenen Genpaaren das eine praereduziert, während die Praereduktion des andern durch ein crossing-over zwischen den beiden Loci in Postreduktion umgewandelt wird.

Erst 1933 hat LINDEGREN Ergebnisse der Prae- und Postreduktion von Genen bei *Neurospora crassa* auf Grund der Annahmen erklärt:

- 1) dass die Spindelfaseransatzstelle SFA stets praereduziert wird,
- 2) dass das crossing-over auf dem Vierstrangstadium vor sich geht, und
- 3) dass damit die Postreduktion von Genen durch crossing-over zwischen Spindelfaseransatzstelle und Genlocus zustande kommt.

Fig. 6 zeigt schematisch, wie bei Praereduktion der SFA (Ss) die Praereduktion eines distal gelegenen Allelenpaares (Aa) durch crossing-over im Vierstrangstadium in Postreduktion umgekehrt

wird. — Auf Grund dieser Annahmen wird die Häufigkeit von Postreduktion direkt zu einem Masse für die Häufigkeit von crossing-over zwischen SFA und Genlocus und damit, ähnlich wie der Austauschprozentsatz, zu einem Mass für Genabstände. Da nun für verschiedene Genpaare die Gendistanzen sowohl auf Grund von Austauschhäufigkeiten wie auch auf Grund von Postreduktionshäufigkeiten (s. unten) berechnet werden können und hierbei übereinstimmen müssen, lässt sich aus der Uebereinstimmung die Richtigkeit der zugrundeliegenden Annahmen direkt beweisen. LINDEGREN hat diesen Beweis mit der Aufstellung einer Genkarte des Geschlechtschromosomes von *N. crassa* geleistet: Er fand Uebereinstimmung der in beider Weise berechneten Gendistanzen zunächst für drei Loci (1933) und später für sechs Loci (1936).

In ganz entsprechender Weise hat KNAPP (1936, 1937) bei dem Lebermoose *Sphaerocarpus Donnellii* sowohl auf Grund der Häufigkeiten, mit der die einzelnen Gene postreduzieren, wie auch auf Grund der Austauschhäufigkeiten zwischen den entsprechenden Genen eine übereinstimmende Chromosomenkarte von sechs Genen einer bestimmten Koppelungsgruppe aufstellen können — auch dies ein Beweis für stetige Praereduktion der Spindelfaseransatzstelle und crossing-over im Vierstrangstadium.

Einige tetradenanalytische Untersuchungen der dreissiger Jahre schienen allerdings noch gegen diese Annahmen zu sprechen. ZICKLER

(1934, 1937) glaubte am Ascomyceten *Bombardia lunata* zeigen zu können, dass die SFA sowohl praereduktionell wie auch postreduktionell verteilt werden könne. Auch WÜLKER (1935) kam auf Grund von Ergebnissen an *Neurospora sitophila* zum selben Schlusse. Endlich stehen die Resultate von MOEWUS an Algenarten (*Polytoma*, 1935 a; *Protosiphon* 1935 c; *Chlamydomonas*, 1936, 1938) in direktem Widerspruch mit der Annahme von crossing-over im Vierstrangstadium, indem sich die Resultate restlos durch crossing-over im Zwei-strangstadium erklären lassen, während alle anderen Erklärungs-

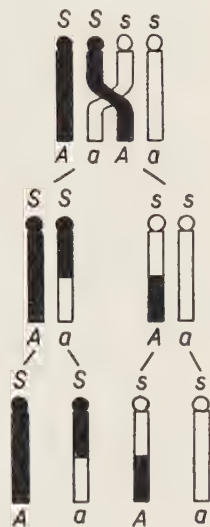


Fig. 6. Schematische Darstellung der Umkehr von Praereduktion in Postreduktion durch crossing-over im Vierstrangstadium. — S und s = homologe Spindelfaseransatzstellen, A und a = distal gelegenes Allelenpaar. — Vgl. Text.

versuche auf Schwierigkeiten stossen. KNAPP (1937), LUDWIG (1937, 1938) und DODGE (1940) haben aber darauf hingewiesen, dass mit Ausnahme der Ergebnisse von MOEWUS alle früheren Resultate, einschliesslich der neueren ZICKLERS und WÜLKERS, mit der Auffassung im Einklang stehen, dass

- 1) die Spindelfaseransatzstelle stets praereduziert wird und
- 2) das crossing-over sich auf dem Vierstrangstadium abspielt.

Es ist deshalb zu fordern, dass neue, tetradenanalytische Untersuchungen auf der Basis dieser zwei Voraussetzungen beurteilt werden.

Es ist nun bereits im letzten Kapitel angedeutet worden, dass die regelmässige reihenförmige Anordnung der Sporen bei *Schizosaccharomyces Pombe* für die Bestimmung der Häufigkeit von Prae- und Postreduktion bestimmter Allelenpaare von Bedeutung sein kann. Die Voraussetzung ist, dass die erste meiotische Teilung die beiden Tochterkerne genügend weit von einander trennt, sodass sich die beiden Spindeln der zweiten meiotischen Teilung nicht überlappen und ein Vertauschen der Lage der vier Enkelkerne nicht möglich ist. Fig. 7 bringt einige Möglichkeiten der Kernverteilung im Ascus zur Darstellung. Prinzipiell sind vier verschiedene Anordnungen der Sporen mit Rücksicht auf die Verteilung eines Allelenpaares möglich: Abb. a bis d, bzw. Abb. e bis h. Sie lassen sich bei beiden Kernteilungsweisen erreichen: sowohl bei deutlicher Trennung der Spindeln der zweiten meiotischen Teilung (Abb. a bis d), wie auch bei überlappender (»konjugierter«) Stellung der Spindeln, welche zur Vertauschung der Lage einzelner Kerne führen kann (Abb. e bis h; die verschiedenen Verteilungsmöglichkeiten sind nur für die Vertauschung der beiden inneren Kerne der Kernreihe dargestellt). Bei getrennter Spindelstellung lässt die Anordnung a (die beiden Sporenarten zu Paaren voneinander geschieden) direkt auf Praereduktion des Genpaares schliessen, während die Anordnungen b, c und d (die beiden Sporenarten gemischt) für Postreduktion beweisend sind. Durch die Kernvertauschung bei konjugierter Spindelstellung wird dieser Nachweis für Prae- und Postreduktion verunmöglicht.

Es muss demnach erst der zytologische Nachweis geleistet werden, dass die Spindeln der zweiten meiotischen Teilung im jungen Ascus getrennt liegen, bevor aus der Anordnung der Sporen Rückschlüsse auf die Häufigkeit von Prae- und Postreduktion eines Genpaares gezogen werden dürfen. Trifft dies aber zu, so ist

gleichzeitig die Möglichkeit gegeben, den Abstand des betreffenden Genlocus von der SFA zu bestimmen, wie dies bei der Besprechung der Arbeiten von LINDEGREN und KNAPP angedeutet worden ist. Bei der Berechnung von Genabständen in Morganeinheiten ist zu beachten, dass sich die Austauschwerte der Genetik höherer Organismen auf die Häufigkeit von Austauschchromatiden beziehen. Nun lässt jede Chromatidentetrad mit einem crossing-over zwischen

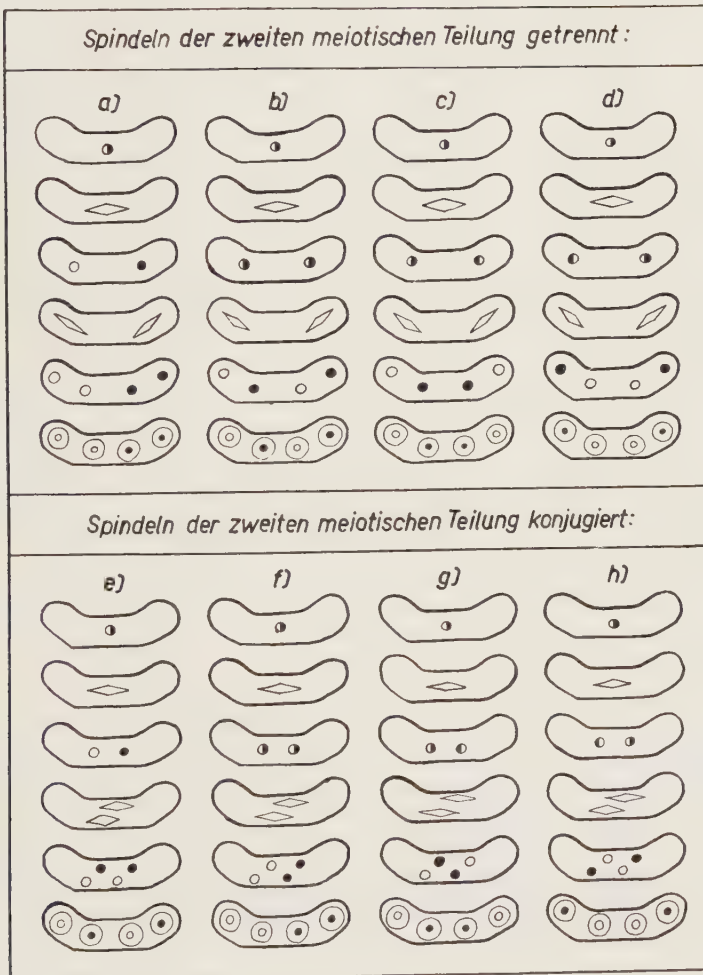


Fig. 7. Die Möglichkeiten der Kernverteilung im Ascus bei getrennter und konjugierter Spindelstellung während der zweiten meiotischen Teilung, unter der Voraussetzung monohybrider Vererbung eines einfachen Merkmalspaares (in der Figur durch schwarze und weisse Färbung charakterisiert). Vgl. Text.

zwei der vier Chromatiden je zwei Chromatiden mit und zwei ohne Austausch aus sich hervorgehen. Es lässt sich leicht zeigen, dass dies — statistisch gesehen — auch für Tetraden mit mehr als einem crossing-over gilt. Es ist demnach die Häufigkeit der Tetraden mit mindestens einem crossing-over doppelt so gross wie die Häufigkeit der Austauschchromatiden, woraus folgt, dass zur Berechnung von Austauschwerten die prozentualen Häufigkeiten von Tetraden mit mindestens einem crossing-over durch zwei zu dividieren sind.

Nun wird aber nicht jede Tetrade mit mehreren crossing-overs als Tetrade mit Postreduktion registriert, da die Summierung mehrerer crossing-overs die Postreduktion eines Genpaares wieder in Praereduktion umkehren kann. Bei Vorkommen mehrfachen crossing-overs ist demnach die Häufigkeit der Postreduktionstetraden kleiner als diejenige von Tetraden mit mindestens einem crossing-over. Dieselbe Beziehung gilt für die entsprechenden halben Häufigkeiten: Der »Reduktionswert« (LUDWIG 1937, 1938), der definiert ist als die halbe prozentuale Häufigkeit der Tetraden mit Postreduktion, entspricht dem Austauschwert, der sich als die halbe prozentuale Häufigkeit der Tetraden mit mindestens einem crossing-over definieren lässt. Er ist mit dem Austauschwert identisch bei absoluter Interferenz im untersuchten Intervall, d. h. wenn zwischen SFA und dem betreffenden Genlocus nicht mehr als ein crossing-over eintreten kann. Bei mehrfachem crossing-over wird er kleiner als der Austauschwert. Die Grösse der Differenz ist von der Stärke der Interferenz abhängig.

Eigentliche Austauschwerte zwischen SFA und Genlocus lassen sich deshalb auf Grund von Reduktionsresultaten nur für kurze Intervalle berechnen. Für diese gilt:

$$\text{Reduktionswert} = \text{Austauschwert} = \text{Mapdistance.}$$

Für längere Gendistanzen lässt sich der Austauschwert durch den Reduktionswert annähern. Hier gilt:

$$\text{Reduktionswert} < \text{Austauschwert} < \text{Mapdistance.}$$

Zur Berechnung des Reduktionswertes wird, nach der oben angeführten Definition, der Prozentsatz der Tetraden mit nachgewiesener Postreduktion durch zwei dividiert.

#### b) *Die zytologische Grundlage.*

Die Notwendigkeit, Näheres über den zytologischen Verlauf der meiotischen Kernteilungen zu erfahren, veranlasste die Her-

stellung von Feulgenpräparaten junger Sporenkulturen. Die Technik war die von WINGE 1935 beschriebene: Ein Ausstrichpräparat der Sporenkultur wird während einer halben Minute in Chloroform fixiert. Nach Verdampfen des Chloroforms wird das Präparat sofort in Wasser gespült (2 Min.) und weiter während 5 Minuten in normaler Weise bei 60°C in 1/n HCl hydrolysiert und drei Stunden lang in Feulgenfuchsin gefärbt. Die Färbung ist meist sehr schwach, aber doch deutlich genug.

Fig. 8, 9 und 10 zeigen ein-, zwei-, drei- und vierkernige Stadien der Meiose aus jungen Sporenkulturen eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs, eines homothallischen Stammes des 40 %-Typs und einer Kombination zweier heterothallischer Stämme entgegengesetzten Paarungstyps. Die Zygotenform ist in den beiden homo-

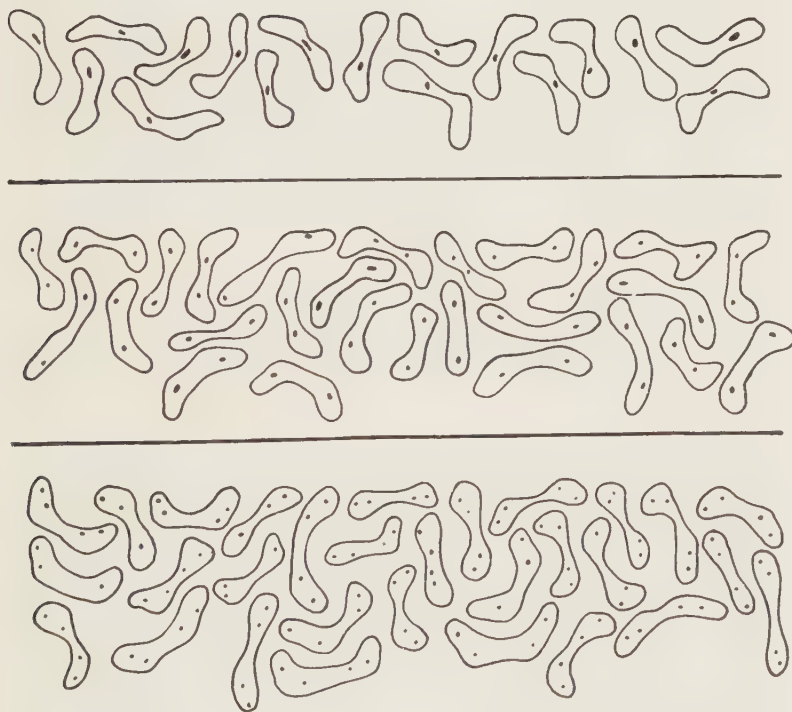


Fig. 8. Ein-, zwei-, drei- und vierkernige Stadien der Meiose aus jungen Sporenkulturen eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27), nach Feulgenfärbung.

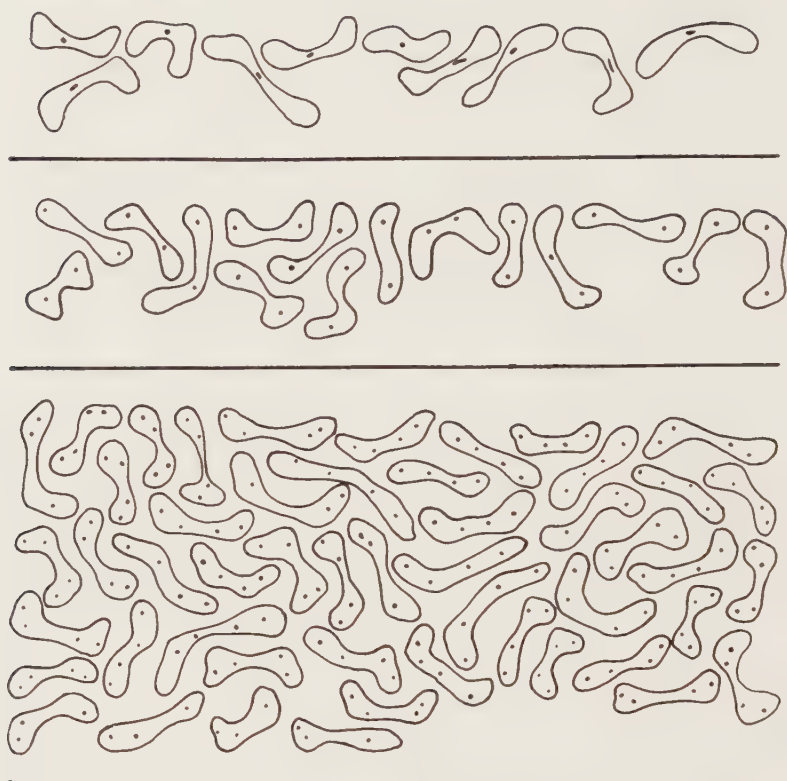


Fig. 9. Ein-, zwei-, drei- und vierkernige Stadien der Meiose aus jungen Sporenkulturen eines homothallischen Stammes des 40 0/0-Typs (Z 6), nach Feulgenfärbung.

thallischen Stämmen vorwiegend regelmässig, was darauf deutet, dass meist Schwesterzellen kopuliert sind, dagegen unregelmässig in der Kombination heterothallischer Stämme, da hier stets Nicht-Schwesterzellen miteinander kopulieren. In Bezug auf das Verhalten der Kerne ergibt sich aber durchwegs genau dasselbe Bild. Zwar lassen sich Spindeln kaum nachweisen. Doch lässt die Stellung der Kerne nach der ersten<sup>1</sup> und der zweiten Reifeteilung ohne weiteres darauf schliessen, dass die erste Teilung die beiden Tochterkerne deutlich von einander trennt, sodass die beiden Spindeln der zweiten Teilung in die entgegengesetzten Ascusenden zu liegen kommen und

<sup>1</sup>) Die abgebildeten zweikernigen Stadien liegen allerdings teilweise vor der Karyogamie, sind sicher aber zu einem grossen Teile auch Stadien der ersten meiotischen Teilung. Eine sichere Unterscheidung ist nicht möglich.

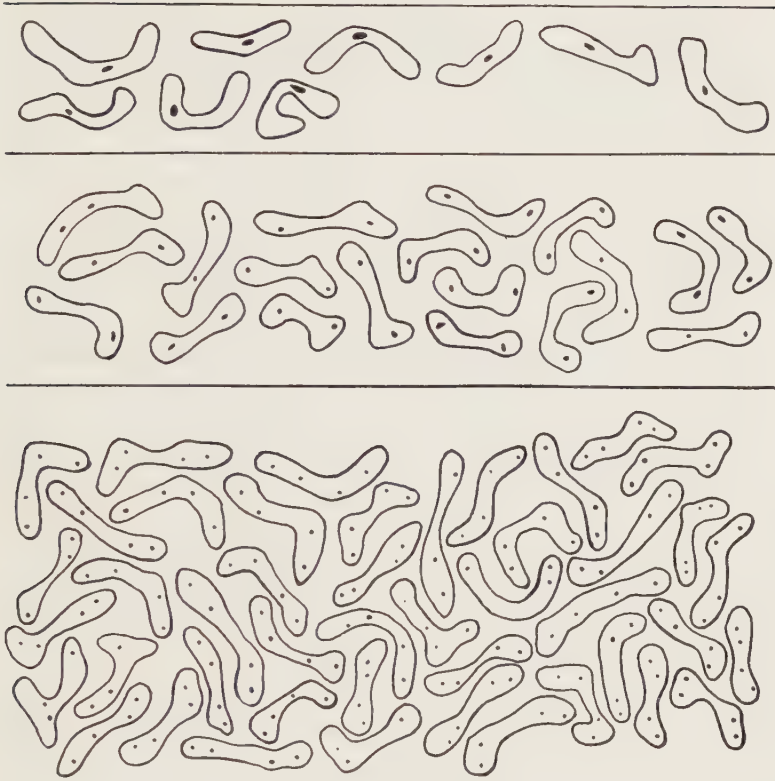


Fig. 10. Ein-, zwei-, drei- und vierkernige Stadien der Meiose aus jungen Sporenkulturen einer Kombination zweier heterothallischer Stämme entgegengesetzten Paarungstyps (7a: Paarungstyp +; 7b: Paarungstyp —).

eine Lagevertauschung der vier Enkelkerne nicht möglich ist. Tatsächlich finden sich diese auch häufig zu Paaren in den Enden des Ascus angeordnet. Besonders auch die dreikernigen Stadien sprechen deutlich für getrennte Spindelstellung in der zweiten meiotischen Teilung. Dazu kommt, dass für den homothallischen 40 %/o-Typ bekannt ist, dass für bestimmte Aufspaltungen ausschliesslich 2:2-Anordnungen innerhalb des Ascus gefunden werden, d. h. Anordnungen des Typus AAaa (Fig. 7, Abb. a). Hier kommen also Kernvertauschungen mit Sicherheit nicht vor, und da sich der 40 %/o-Typ in seinem zytologischen Verhalten während der Meiose von den übrigen Typen nicht nachweisbar unterscheidet, trifft dies offensichtlich auch für diese zu.

Damit ist aber nachgewiesen, dass sich die Anordnungen der Sporen im Ascus von *Schizosaccharomyces Pombe* für die Berechnung der Häufigkeit von Praereduktion und Postreduktion und damit zur Bestimmung von Gendistanzen auswerten lassen.

c) Die Kreuzung heterothallisch +  $\times$  heterothallisch —.

Wie im vorhergehenden Kapitel dargelegt worden ist, wurden bei Isolationen heterothallischer Einzelsporkulturen aus dem Ausgangsstamme, soweit die Asci vollständig ausgekeimt waren, stets Aufspaltungen in zwei Stämme des Paarungstyps + und zwei Stämme des Paarungstyps — gefunden. Eine zusammenfassende Tabelle aller im Laufe dieser Arbeit nachgewiesenen +: — - Aufspaltungen (Tab. 12) zeigt, dass dieser Befund allgemein gilt. Die zahlreichen Resultate erübrigen es, dies speziell auch für die Nachkommen einer eigentlichen Kreuzung von heterothallisch + mit heterothallisch — nachzuweisen. Alle die erhaltenen 2:2-Aufspaltungen zeigen deutlich genug, dass der Paarungstyp der heterothallischen Stämme durch ein einfaches Genpaar kontrolliert wird, dessen Allele im folgenden mit  $h^+$  und  $h^-$  bezeichnet werden sollen.

Dagegen soll hier, in Anlehnung an die Ausführungen der beiden vorhergehenden Abschnitte, der Anordnung der + und — - Sporen innerhalb des Ascus noch besondere Beachtung geschenkt werden. Ganz allgemein sind die Sporen eines jeden im Laufe dieser Untersuchungen isolierten Ascus in der Reihenfolge ihrer Lage innerhalb des Ascus isoliert worden. Die Sporenbezeichnungen a, b, c, d geben stets die gegenseitige Lagebeziehung der Sporen an. In Tabelle 12 ist in den beiden letzten Kolonnen für jeden einzelnen Ascus notiert, ob aus der betreffenden Sporenanordnung auf Praereduktion oder Postreduktion geschlossen werden kann. Zu dieser Bestimmung genügen auch Asci mit nur drei gekeimten Sporen, da unter Zugrundelegen einer 2:2-Aufspaltung der Paarungstyp der nicht gekeimten Spore leicht zu ermitteln ist. Selbst für Asci mit nur zwei zur Entwicklung gelangten Sporen lässt sich der Reduktionstyp in vielen Fällen angeben. Wie aus der Tabelle hervorgeht, wiegt die Postreduktion der Heterothalliefaktoren  $h^+$  und  $h^-$  weitaus vor. Sie wird in 24 von 30 Asci beobachtet, während in nicht mehr als sechs Fällen praereduziert worden ist. Das entspricht einer prozentualen Häufigkeit von 80,0 % für die Tetraden mit Postreduktion, woraus sich für den Genlocus ein Reduktionswert von 40,0 % be-

Tabelle 12.

Zusammenfassung der Aufspaltungen in heterothallisch  
+ und heterothallisch-. Vgl. Text

| Askus Nr.                  |     | a  | b  | c  | d  | Prae-<br>red. | Post-<br>red. |
|----------------------------|-----|----|----|----|----|---------------|---------------|
| 7*                         | ..  | +  | —  | +  | —  | ..            | ×             |
| 8*                         | ..  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
| 10*                        | ..  | —  | +  | .. | .. | ..            | ×             |
| 11*                        | ..  | +  | —  | +  | —  | ..            | ×             |
| 13*                        | ..  | +  | —  | +  | .. | ..            | ×             |
| 15*                        | ..  | +  | —  | .. | +  | ..            | ×             |
| 16*                        | ..  | +  | —  | .. | —  | ..            | ×             |
| 17*                        | ..  | +  | +  | —  | —  | ×             | ..            |
| 19*                        | ..  | —  | +  | —  | +  | ..            | ×             |
| 20*                        | ..  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
| 7a                         | 2*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 4*  | +  | +  | —  | .. | ×             | ..            |
|                            | 5*  | +  | +  | —  | —  | ×             | ..            |
|                            | 6*  | —  | +  | —  | +  | ..            | ×             |
|                            | 13* | +  | —  | .. | —  | ..            | ×             |
|                            | 15* | —  | +  | —  | +  | ..            | ×             |
| 7c                         | 4*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 5*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 7*  | —  | —  | +  | +  | ×             | ..            |
|                            | 8*  | —  | +  | —  | +  | ..            | ×             |
|                            | 9*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 11* | —  | +  | +  | .. | ..            | ×             |
| 7c/5a                      | 1*  | +  | +  | —  | .. | ×             | ..            |
|                            | 2*  | —  | +  | .. | —  | ..            | ×             |
|                            | 3*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 7*  | —  | +  | +  | —  | ..            | ×             |
|                            | 10* | —  | +  | —  | .. | ..            | ×             |
| 7c/5d                      | 2*  | +  | +  | —  | —  | ×             | ..            |
|                            | 9*  | —  | +  | —  | +  | ..            | ×             |
|                            | 11* | —  | +  | +  | .. | ..            | ×             |
| Total Aufspaltungen ... 30 |     | .. | .. | .. | .. | 6             | 24            |

rechnet. Hieraus darf abgeleitet werden, dass der Genabstand zwischen SFA und Genlocus mindestens 40 Morganeinheiten, bei normalen Interferenzverhältnissen sicher aber mehr beträgt. Da der Wert nahe dem für *Drosophila* gefundenen Maximum von 42 % liegt und die bis jetzt bekannten Höchstwerte anderer Organismen in der Fehlerbreite dieser Zahl liegen, sind — unter Voraussetzung einer ähnlichen Interferenzstärke — auch beliebig grössere Gendistanzen mit dem gefundenen Reduktionswerte von 40 % vereinbar.

d) Die Kreuzung homothallisch 90 %  $\times$  heterothallisch +.

Die Beobachtung, dass innerhalb der homothallischen Typen in einem kleinen Prozentsatze auch Nicht-Schwesterzellen kopulieren, liess es möglich erscheinen, unter Umständen homothallische und heterothallische Stämme miteinander kreuzen zu können. Das Auftreten einer Aufspaltung in eine homothallische Kultur des 90 %-Typs und eine heterothallische Kultur des Paarungstyps — in einem der Asci, die aus dem Ausgangsstamme isoliert worden waren (im Ascus Nr. 4 der Tabellen 7 und 10), deutete ebenfalls

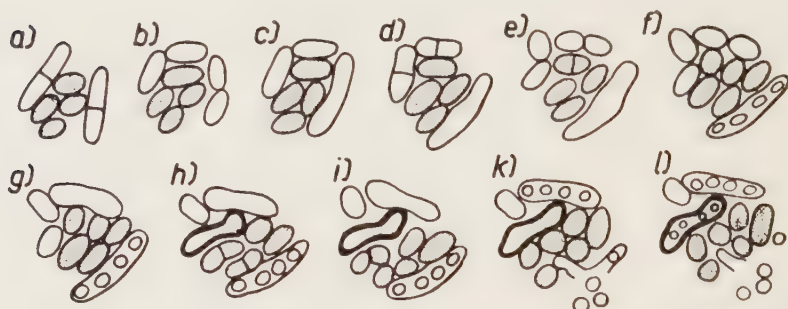


Fig. 11. Der Kopulationsverlauf in der Kombination eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27, weiss angegeben) mit einem heterothallischen Stammes des Paarungstyps + (7a, grau angegeben).

a) 11. Mai 00<sup>15</sup>. b) 00<sup>58</sup>. c) 04<sup>27</sup>. d) 08<sup>20</sup>. e) 09<sup>26</sup>. f) 10<sup>45</sup>. g) 11<sup>47</sup>. h) 14<sup>58</sup>.  
i) 16<sup>15</sup>. k) 20<sup>02</sup>. l) 21<sup>32</sup>.

darauf hin, dass Kopulationen zwischen homothallischen und heterothallischen Zellen möglich sind. Leider gab dieser Fall keinen weiteren Aufschluss über die Art der Aufspaltung, da nicht mehr als zwei Sporen gekeimt waren.

Zunächst galt es, für die homothallischen Typen von *Schizosaccharomyces pombe* eine brauchbare Kreuzungstechnik auszuarbeiten. Da Kopulationen zwischen Sporen nicht beobachtet werden, müssen Kombinationen von vegetativen Zellen angesetzt werden. Eine direkte Kopulation zweier mittels des Mikromanipulators im hängenden Bierwürzetröpfchen zusammengebrachter Zellen lässt sich praktisch nicht erreichen, da die exakten Bedingungen für eine sofortige Kopulation kaum zu realisieren sind. In frischer Bierwürze geht den Kopulationen zunächst eine intensive vegetative Vermehrung voraus. Wird bereits erschöpfte Nährlösung verwendet, so kann es leicht geschehen, dass die kombinierten Zellen ohne Kopu-

lation frühzeitig absterben. Zudem bildet bei homothallischen Stämmen die geringe Häufigkeit der Nicht-Schwesterzellkopulationen ein wesentliches Hindernis für eine leichte Kreuzbarkeit. Es müssen deshalb Kombinationen ganzer Gruppen von Zellen während mehrerer Stunden und Tage in der Sporenkultur beobachtet werden, damit allfällige Nicht-Schwesterzellkopulationen zwischen einzelnen Zellen der beiden gekreuzten Stämme entdeckt werden können.

Fig. 11 zeigt den Verlauf des ersten derartigen Kreuzungsversuches im hängenden Bierwürzetröpfchen in der feuchten Kammer. Zu Beginn wurden vier Zellen eines homothallischen Stammes des 90 % - Typs (Z 27) mit zwei in Teilung begriffenen Zellen eines heterothallischen Stammes des Paarungstyps + (7 a) in wenig Nährlösung am Rande eines Tröpfchens frischer Bierwürze kombiniert. Zur leichteren zytologischen Unterscheidung der beiden Zellarten am Anfang des Versuches war der homothallische Stamm zuvor in Bierwürze (Zellen weiss angegeben), der heterothallische auf Malzagar (Zellen durch graue Tönung hervorgehoben) gezogen worden. Die Einzelheiten der Kombinationstechnik sind in Kap. I, Abschn. 4 beschrieben worden. — Die Kultur wurde am 11. Mai morgens früh um 00<sup>15</sup> angesetzt (Abb. a). 00<sup>58</sup> ergab die Kontrolle, dass sich beide homothallischen Zellen vollständig geteilt hatten (Abb. b). 04<sup>27</sup> hatten zwei der homothallischen Tochterzellen nach dem normalen Schwesterzellschema kopuliert (Abb. c). Die folgenden Stunden brachten neue Zellteilungen innerhalb beider Stämme. 11<sup>47</sup> wurde eine zweite Kopulation zweier homothallischer Schwesterzellen beobachtet (Abb. g). Soweit entwickelten sich beide Stämme unabhängig voneinander. Aber 14<sup>58</sup> erwies es sich, dass eine homothallische und eine heterothallische Zelle kopuliert hatten. In Abb. h ist die hybride Zygote durch stärkere Linienziehung hervorgehoben; bereits ihre unregelmässige Form deutet auf eine Nicht-Schwesterzellkopulation hin. Die Zygote ging in normaler Weise in einen viersporigen Ascus über. 21<sup>32</sup> wurden die Sporen erstmals festgestellt (Abb. l), und am frühen Morgen des 12. Mai um 02<sup>00</sup> wurden sie in der Reihenfolge ihrer Lage isoliert und einzeln in Tröpfchen frischer Bierwürze verbracht. Leider wurden keine Keimungen erhalten.

Doch war damit jedenfalls ein erstes Mal die Kreuzung einer homothallischen mit einer heterothallischen Zelle geglückt. Durch Wiederholung der Versuche galt es festzustellen, wie häufig derartige Kreuzungen erhalten werden konnten, und ob nicht doch

ein Teil der haploiden Nachkommen sich zur Keimung bringen lassen könnte.

Tabelle 13 fasst die Resultate mehrwöchiger, mühseliger Arbeit zusammen. In stets neuen Versuchen wurden der homothallische 90 %-Stamm Z 27 und der heterothallische + - Stamm 7 a in der beschriebenen Weise kombiniert und die wenigen, durch ständige

**Tabelle 13.**

Aufspaltungen aus mikroskopisch kontrollierten Kreuzungen eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps + (7 a).

|               | Z 27 × 7 a | % Sporen | 7a<br>+ | 7b<br>- | Typ                |
|---------------|------------|----------|---------|---------|--------------------|
| Nr. 1 a ..... |            | 83,6     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 1 b .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 1 c .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 1 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 2 a .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 2 b .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 2 c .....     |            | 78,4     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 2 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 3 a .....     |            | 84,8     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 3 b .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 3 c .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 3 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 4 a .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 4 b .....     |            | 90,8     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 4 c .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 4 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 5 a .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 5 b .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 5 c .....     |            | 90,0     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 5 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 6 a .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 6 b .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 6 c .....     |            | 84,0     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 6 d .....     |            | 85,6     | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 7 a .....     |            | 0,0      | o       | K       | heterothallisch +  |
| 7 b .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 7 c .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |
| 7 d .....     |            | —        | ..      | ..      | — —                |

| Z 27×7a   | %Sporen | 7a<br>+ | 7b<br>— | Typ                |
|-----------|---------|---------|---------|--------------------|
| 8a .....  | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 8b .....  | —       | ..      | ..      | — —                |
| 8c .....  | —       | ..      | ..      | — —                |
| 8d .....  | —       | ..      | ..      | — —                |
| 9a .....  | 88,4    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 9b .....  | 85,6    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 9c .....  | —       | ..      | ..      | — —                |
| 9d .....  | —       | ..      | ..      | — —                |
| 10a ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 10b ..... | 86,4    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 10c ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 10d ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 11a ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 11b ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 11c ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 11d ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 12a ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 12b ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 12c ..... | 89,2    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 12d ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 13a ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 13b ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 13c ..... | 80,0    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 13d ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 14a ..... | 0,0     | o       | K       | heterothallisch +  |
| 14b ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 14c ..... | 87,2    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 14d ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 15a ..... | 78,0    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 15b ..... | 84,8    | ..      | ..      | homothallisch 90 % |
| 15c ..... | —       | ..      | ..      | — —                |
| 15d ..... | —       | ..      | ..      | — —                |

mikroskopische Kontrolle nachgewiesenen Kreuzungsasci isoliert. Wie die Tabelle zeigt, sind in 15 solcher Asci Keimungen einzelner Sporen erhalten worden. Die Bestimmung der Sporenbildungsfähigkeit der Einzelsporkulturen und die Testung der nicht sporulierenden Stämme gegen heterothallische Teststämme ergibt, dass ausnahmslos die beiden eingekreuzten Elterntypen wieder auftreten: der homothallische 90 %-Typ und der heterothallische + - Typ. 9 der 15 Asci zeigen Aufspaltung in die beiden Typen. In den übrigen 6 Asci sind

nicht mehr als eine oder zwei Sporen gekeimt. In einem einzigen Falle ist die Keimung alle vier Sporen gelungen, mit dem Resultate einer einfachen 2:2-Aufspaltung (Tab. 13, Askus Nr. (Z 27 × 7 a)6). Alle übrigen Resultate sind mit einer 2:2-Aufspaltung vereinbar.

Damit beginnt sich ein überraschend einfacher Vererbungsgang für das Merkmalspaar der Homothallie und Heterothallie abzuzeichnen. Die Ergebnisse der mikroskopisch kontrollierten Kreuzungen deuten auf einfache Allelie für einen Faktor für Homothallie des 90 %-Typs einerseits und den Faktor für Heterothallie des Paarungstyps + andererseits. Da ein ebensolches Allelieverhältnis für beide Heterothalliefaktoren  $h^+$  und  $h^-$  bereits nachgewiesen ist, scheint damit die Möglichkeit einer Allelserie dreier Faktoren gegeben, von welchen der eine Homothallie bewirkt, während die zwei andern die beiden Paarungstypen der Heterothallie kontrollieren. Doch muss die Allelie zwischen Homothallie- und Heterothalliefaktor an Hand weiterer Kreuzungsergebnisse nachgeprüft werden. Auf Grund der Annahme eines Allelverhältnisses ist zu fordern: 1) dass durchwegs 2:2-Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch + auftreten, und 2) dass der Reduktionswert der Aufspaltungen im Rahmen der Fehlerbreite des für die Heterothallie gefundenen Reduktionswertes von 40,0 % liege.

Um eine genügende Anzahl von Resultaten zu ermöglichen, war zunächst einmal die Kreuzungstechnik zu vereinfachen, da die Methode der mikroskopischen Kontrolle der Kreuzungen sich als mühsam und zeitraubend erwiesen hatte. Diese Methode hatte gezeigt, dass jede Kopulation einer homothallischen mit einer heterothallischen Zelle bei genügender Keimung der Sporen zu einer Aufspaltung in die beiden Elterntypen führt. Im weiteren konnte auf die mikroskopische Kontrolle verzichtet werden. Es musste genügen, aus der Sporenkultur einer Massenkombination beider Typen Asci zu isolieren und sie durch Kultur der Einzelsporen auf Aufspaltungen zu untersuchen. Dabei war zu erwarten, dass auf Grund der häufigen Kopulationen innerhalb des homothallischen Stammes zum grössten Teile Asci mit vier homothallischen Einzelsporkulturen isoliert würden. Um aber eine Selektion von Aufspaltungsasci zu erreichen, wurden die Isolationen auf Asci unregelmässiger Form beschränkt, die die deutlichen Spuren einer Nicht-Schwesterzellkopulation zeigten. Tatsächlich liess sich auf diese Weise die Zahl der Aufspaltungsasci in den Isolationen ganz beträchtlich erhöhen.

Noch weiter vereinfachte sich diese Methode dadurch, dass sich die homothallischen Kulturen bereits in der Operationskammer im hängenden Bierwürzetröpfchen durch reiche Sporenbildung zu erkennen geben. Wenige Tage nach der Isolation der Sporen unterscheiden sich die jungen, homothallischen und heterothallischen Kulturen bereits bei schwacher Vergrößerung sehr deutlich. Tafeln III und IV zeigen eine 2:2-Aufspaltung in homothallisch und heterothallisch in 7 Tage alten Tröpfchenkulturen in der Operationskammer, bei 90-facher Vergrößerung. Der Ascus war aus der Sporenkultur einer Massenkombination des homothallischen  $90^0_0$ -Stammes Z 27 und des heterothallischen + - Stammes 19 b isoliert worden (Ascus Nr. (Z 27  $\times$  19 b) 1, Tab. 14). Die Einzelsporkulturen a und d sind homothallische Kulturen des  $90^0_0$ -Typs und enthalten ungezählte Sporen, die den Askusverband grossenteils bereits verlassen haben; die Kulturen b und c sind heterothallische Kulturen des Paarungstyps + und bestehen ausschliesslich aus vegetativen Zellen. — Aufspaltungen lassen sich demnach bereits in der Operationskammer erkennen. Soll die Sporenbildungsfähigkeit der Einzelsporkulturen durch exakte Auszählung bestimmt und der Paarungstyp der heterothallischen Stämme getestet werden, so werden die Tröpfchenkulturen in der üblichen Weise in Freudenreichfläschchen mit Bierwürze überimpft und vier Tage später zur Sporenkultur — eventuell mit Teststämmen kombiniert — auf Malzagar übertragen.

Aus der Massenkombination (Z 27  $\times$  19 b) (homothallisch  $90^0_0 \times$  heterothallisch —) wurde eine grössere Anzahl von Sporen unregelmässig geformter Asci isoliert. Wie die Kontrolle der Tröpfchenkulturen in den Operationskammern lehrte, zeigten 41 Asci Keimung in mindestens einer Spore. Rund die Hälfte, nämlich 19 Asci, spalteten in sporulierende und nicht sporulierende Stämme auf. 5 Asci keimten nur in eine oder zwei sporenfreie Einzelsporkulturen aus. Die übrigen Asci lieferten ausschliesslich sporulierende Stämme. Die sporenbildenden Kulturen waren leicht als homothallische Stämme des  $00^0_0$ -Typs zu identifizieren. Für die sporenfreien Kulturen wurde — entsprechend den früheren Kreuzungsergebnissen — Heterothallie des Paarungstyps — vermutet. 24 Einzelsporkulturen von 0 vollständig ausgekeimten Asci wurden in frische Bierwürze übertragen und weiter ausgewertet. Tabelle 14 stellt die Ergebnisse dar: Der Sporenprozentsatz der sporenbildenden Kulturen ist derjenige charakteristischer, homothallischer  $00^0_0$ -Stämme. Die übrigen Kulturen bilden keine oder nur sehr wenige Sporen aus und

**Tabelle 14.**

Aufspaltungen aus der Massenkombination eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps + (19 b).

|             | Z 27 × 19 b | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|-------------|-------------|----------|----------|----------|--------------------|
| Nr. 1a..... |             | 91,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 1b.....     |             | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1c.....     |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1d.....     |             | 88,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2a.....     |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 2b.....     |             | 90,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2c.....     |             | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 2d.....     |             | 85,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3a.....     |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 3b.....     |             | 81,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3c.....     |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 3d.....     |             | 90,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 8a.....     |             | 84,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 8b.....     |             | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 8c.....     |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 8d.....     |             | 82,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 16a.....    |             | 84,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 16b.....    |             | 90,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 16c.....    |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 16d.....    |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 17a.....    |             | 88,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 17b.....    |             | 91,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 17c.....    |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 17d.....    |             | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |

erweisen sich in der Kombination mit den Teststämmen als heterothallische Kulturen des Paarungstyps +. Jeder der sechs Asci zeigt eine Aufspaltung in zwei homothallische und zwei heterothallische Stämme vom Typ der beiden eingekreuzten Elternstämme.

Auch die Aufspaltungen nicht vollständig ausgekeimter Asci der Kreuzung (Z 27 × 19 b) waren mit einer 2:2-Aufspaltung vereinbar. Sie sind in Tabelle 15 dargestellt, welche sämtliche im Laufe dieser Arbeit angetroffenen Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch + zusammenfasst. Durch \* sind die in der Malzagarkultur auf Sporenprozentatz und Paarungstyp geprüften Aufspaltungen gekennzeichnet. Für sie sind die genauen Werte in

**Tabelle 15.**

Zusammenfassung der Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch+. Vgl. Text.

| Askus Nr.              |     | a  | b  | c  | d  | Prae-<br>red. | Post-<br>red. |
|------------------------|-----|----|----|----|----|---------------|---------------|
| (Z 27 × 7a) .....      | 1*  | 90 | +  | .. | .. | ..            | ×             |
|                        | 2*  | +  | +  | 90 | .. | ×             | ..            |
|                        | 4*  | +  | 90 | .. | .. | ..            | ×             |
|                        | 5*  | +  | .. | 90 | .. | ..            | ..            |
|                        | 6*  | +  | +  | 90 | 90 | ×             | ..            |
|                        | 10* | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
|                        | 12* | +  | .. | 90 | .. | ..            | ..            |
|                        | 13* | +  | .. | 90 | .. | ..            | ..            |
|                        | 14* | +  | .. | 90 | .. | ..            | ..            |
|                        | 1*  | 90 | +  | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 2*  | +  | 90 | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 3*  | +  | 90 | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 4   | 90 | .. | +  | .. | ..            | ..            |
|                        | 5   | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
| (Z 27 × 19b) .....     | 6   | 90 | 90 | +  | .. | ×             | ..            |
|                        | 7   | +  | 90 | +  | .. | ..            | ×             |
|                        | 8*  | 90 | +  | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 9   | +  | 90 | .. | .. | ..            | ..            |
|                        | 10  | 90 | 90 | .. | +  | ×             | ..            |
|                        | 11  | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
|                        | 12  | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
|                        | 13  | 90 | +  | 90 | .. | ..            | ×             |
|                        | 14  | +  | 90 | +  | .. | ..            | ×             |
|                        | 15  | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
|                        | 16* | 90 | 90 | +  | +  | ×             | ..            |
|                        | 17* | 90 | 90 | +  | +  | ×             | ..            |
|                        | 18  | +  | 90 | .. | +  | ..            | ×             |
|                        | 19  | +  | 90 | .. | .. | ..            | ×             |
|                        | 7*  | +  | 90 | 90 | .. | ..            | ×             |
|                        | 9*  | 90 | +  | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 10* | +  | 90 | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 12* | 90 | 90 | +  | +  | ×             | ..            |
|                        | 1*  | +  | 90 | .. | 90 | ..            | ×             |
| 7c.....                | 3*  | 90 | 90 | +  | +  | ×             | ..            |
|                        | 6*  | 90 | +  | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        | 10* | 90 | +  | +  | 90 | ..            | ×             |
|                        |     |    |    |    |    |               |               |
| Total Aufspaltungen... |     | 36 | .. | .. | .. | 8             | 23            |

Spezialtabellen zusammengestellt. Die übrigen Aufspaltungen wurden lediglich in der Operationskammer nachgewiesen, wobei für die sporulierenden Kulturen die Angabe »90« = »Homothallie des 90 %-

Typus auf Schätzung beruht und für die sporenfreien Kulturen in Uebereinstimmung mit den vollständig ausgewerteten Ergebnissen Heterothallie des Paarungstyps + (Bezeichnung durch »+«) angenommen wurde. Die Tabelle zeigt deutlich, dass das Merkmalspaar homothallisch 90 % / heterothallisch + einfach monohybrid aufspaltet, dass also tatsächlich ein Homothalliefaktor des 90 %-Typs — bezeichnen wir ihn mit  $H^{90}$  — zum Heterothalliefaktor  $h^+$  allel sein muss.

Damit steht nun auch im Einklang, dass sich aus der prozentualen Häufigkeit der Postreduktionsanordnungen der Sporen in diesen Aufspaltungen ein Reduktionswert berechnen lässt, der mit dem für das Genpaar  $h^+/h^-$  berechneten Werte von 40,0 % im Rahmen der Fehlerbreite übereinstimmt. In Tabelle 15 stehen 8 Praereduktionen 23 Postreduktionen gegenüber, was einem Prozentsatz von 74,2 % Postreduktionen oder einem Reduktionswert von 37,1 % entspricht. Dies deutet — wenn auch die Versuchszahlen relativ gering sind — auf gleichen Genlocus für die Gene  $H^{90}$ , und  $h^+$  und  $h^-$ , oder mit anderen Worten ebenfalls auf Allelie der drei Faktoren.

e) *Die Kreuzung homothallisch 90 %  $\times$  heterothallisch —.*

Die letzten beiden Abschnitte haben eine Allelserie dreier Faktoren für Homothallie des 90 %-Typs bzw. Heterothallie der Paarungstypen + und — nachgewiesen. Dieser Nachweis wurde anhand von 2:2-Aufspaltungen in die beiden heterothallischen Paarungstypen einerseits, sowie in den homothallischen 90 %-Typ und den heterothallischen Paarungstyp + andererseits geleistet. Wenn dies richtig ist, so lassen sich für die noch ausstehende Kreuzung zwischen dem homothallischen 90 %-Typ und dem heterothallischen Paarungstyp — mit Bestimmtheit 2:2-Aufspaltungen in die beiden Elterntypen sowie ein Reduktionswert von der Grössenordnung von 37–40 % voraussehen.

Diese Voraussage wurde in einer Kreuzung des homothallischen 90 %-Stammes Z 27 mit dem heterothallischen — Stamme 19 geprüft. Die Kreuzung wurde, wie oben beschrieben, als Massenkombination auf Malzagar angesetzt, wonach durch Isolation von Asci unregelmässiger Form (Nicht-Schwesterzellkopulationen!) eine Selektion von Aufspaltungen zu erreichen versucht wurde. Die Kontrolle der jungen Tröpfchenkulturen in den Operationskammern zeigte, dass auch hier rund die Hälfte der teilweise oder vollständig ausgekeimten Asci — nämlich 19 von 39 — Aufspaltung in reich

Tabelle 16.

Aufspaltungen aus der Massenkombination eines homothallischen Stammes des 90 %-Typs (Z 27) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps — (19 a).

| Z 27 × 19a  | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|-------------|----------|----------|----------|--------------------|
| Nr. 3a..... | 86,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3b.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 3c.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 3d.....     | 87,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 7a.....     | 81,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 7b.....     | 81,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 7c.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 7d.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 8a.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 8b.....     | 80,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 8c.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 8d.....     | 84,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 9a.....     | 89,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 9b.....     | 79,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 9c.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 9d.....     | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 10a.....    | 86,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 10b.....    | 88,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 10c.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 10d.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 11a.....    | 83,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 11b.....    | 88,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 11c.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 11d.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 12a.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 12b.....    | 89,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 12c.....    | 78,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 12d.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 14a.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 14b.....    | 88,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 14c.....    | 0,0      | 0        | K        | heterothallisch —  |
| 14d.....    | 86,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |

sporulierende und nicht sporulierende Einzelsporstämme aufwiesen. Die genaue Auswertung von acht vollständigen Asci ergab die erwarteten 2:2-Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch —, wie sich aus Tabelle 16 entnehmen lässt. Auch die Resultate der unvollständigen Asci waren mit 2:2-Aufspaltung verein-

bar. Sie sind in Tabelle 17 angeführt, welche sämtliche Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch — zusammenfasst, die während der vorliegenden Untersuchungen gefunden wurden. »90« bedeutet Homothallie des 90 %-Typs, »—« Heterothallie des Paarungstyps —. Wie in Tabelle 15 beruhen diese Angaben nur in den mit \* bezeichneten Aufspaltungen auf genauer Auszählung und Kombination mit Teststämmen in der Malzagarkultur. In den übrigen Aufspaltungen geben sie den wahrscheinlichen Geschlechtstyp der einzelnen Kulturen an, der sich auf Grund ihrer Sporenbildungsfähigkeit in der Operationskammer und auf Grund der Geschlechtstypen der Elternstämme voraussehen lässt.

Tabelle 17.

Zusammenfassung der Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch —. Vgl. Text.

| Askus Nr.               |     | a  | b  | c  | d  | Prae-<br>red. | Post-<br>red. |
|-------------------------|-----|----|----|----|----|---------------|---------------|
| 4*.....                 |     | —  | 90 | .. | .. | ..            | ×             |
| (Z 27 × 19a) .....      | 1   | 90 | —  | —  | .. | ..            | ×             |
|                         | 2   | 90 | —  | 90 | .. | ..            | ×             |
|                         | 3*  | 90 | —  | —  | 90 | ..            | ×             |
|                         | 4   | 90 | .. | —  | .. | ..            | ..            |
|                         | 5   | —  | 90 | .. | 90 | ..            | ×             |
|                         | 6   | .. | —  | 90 | .. | ..            | ..            |
|                         | 7*  | 90 | 90 | —  | —  | ×             | ..            |
|                         | 8*  | —  | 90 | —  | 90 | ..            | ×             |
|                         | 9*  | 90 | 90 | —  | —  | ×             | ..            |
|                         | 10* | 90 | 90 | —  | —  | ×             | ..            |
|                         | 11* | 90 | 90 | —  | —  | ×             | ..            |
|                         | 12* | —  | 90 | 90 | —  | ..            | ×             |
|                         | 13  | —  | .. | .. | 90 | ..            | ..            |
|                         | 14* | —  | 90 | —  | 90 | ..            | ×             |
|                         | 15  | 90 | .. | —  | .. | ..            | ..            |
|                         | 16  | —  | 90 | .. | 90 | ..            | ×             |
|                         | 17  | —  | 90 | —  | .. | ..            | ×             |
|                         | 18  | —  | —  | 90 | .. | ×             | ..            |
|                         | 19  | —  | —  | 90 | .. | ×             | ..            |
| 7c/5a.....              | 4*  | —  | 90 | .. | 90 | ..            | ×             |
|                         | 8*  | 90 | —  | 90 | —  | ..            | ×             |
|                         | 9*  | 90 | 90 | —  | —  | ×             | ..            |
| 7c/5d.....              | 4*  | 90 | —  | —  | .. | ..            | ×             |
|                         | 6*  | —  | 90 | 90 | —  | ..            | ×             |
|                         | 7*  | —  | 90 | 90 | .. | ..            | ×             |
|                         | 13* | —  | 90 | .. | .. | ..            | ×             |
| Total Aufspaltungen ... | 27  | .. | .. | .. | .. | 7             | 16            |

Auch der Reduktionswert dieser Kreuzung bestätigt die Erwartung. In Tabelle 17 sind 7 Praereduktionen und 16 Postreduktionen notiert. Die prozentuale Häufigkeit der Postreduktionstraden beträgt demnach 69,6 %, und der Reduktionswert berechnet sich zu 34,8 %. Damit steht der Auffassung nichts mehr im Wege, dass die drei Faktoren  $H^{90}$ ,  $h^+$  und  $h^-$  Allele ein und derselben Allelserie sind.

*f) Die Kreuzung homothallisch 40 %  $\times$  heterothallisch +.*

Nach dem Vorhergehenden erschien es aufschlussreich, auch über die Vererbung des homothallischen 40 %-Typs Näheres zu erfahren. Existierte ein Homothalliefaktor für die Ausbildung des 40 %-Typs, der sich als neues Allel in die bereits nachgewiesene Allelserie einreichte? Die Möglichkeit hierzu schien keineswegs ausgeschlossen. Um die Frage zu beantworten, wurden Kreuzungen des homothallischen 40 %-Typs mit den beiden heterothallischen Paarungstypen und mit dem homothallischen 90 %-Typ angesetzt. Im folgenden sollen zunächst die Ergebnisse von Kreuzungen des homothallischen 40 %-Stammes Z 6 mit dem heterothallischen + - Stamme 19 b besprochen werden.

Wieder wurde die Kreuzung als Massenkombination beider Stämme auf Malzagar ausgeführt und versucht, durch Isolation unregelmässiger Asci die Aufspaltungen anzureichern. Eigentümlicherweise gelang dies hier in bedeutend geringerem Masse als in den vorhergehend besprochenen Kreuzungen. Unter insgesamt 70 Asci mit mindestens einer ausgekeimten Spore fanden sich nicht mehr als neun Aufspaltungen. Die Isolationen wurden in drei verschiedenen Kreuzungsversuchen mit denselben Stämmen ausgeführt. Die neun Aufspaltungen verteilten sich zufällig über alle drei Versuchsreihen. Somit schien es wenig wahrscheinlich, dass die niedere Ausbeute an Aufspaltungen auf Verschiedenheit der Versuchsbedingungen zurückzuführen war. Vielmehr schien sie auf eine geringere Affinität des homothallischen 40 %-Stammes zum heterothallischen + - Stamme zu deuten.

Bereits die Kontrolle der Tröpfchenkulturen in den Operationskammern bewies, dass einfache Aufspaltungen in sporulierende und nicht sporulierende Stämme vorlagen. Der Sporenprozentsatz der sporenbildenden Kulturen war auf ca. 40 % anzuschlagen. Die vollständige Auswertung aller neun Aufspaltungen ergab, dass

Tabelle 18.

Aufspaltungen aus der Massenkombination eines homothallischen Stammes des 40 %-Typs (Z 6) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps + (19 b).

| Z 6 × 19b   | % Sporen | 19a | 19b | Typ                |
|-------------|----------|-----|-----|--------------------|
|             |          | —   | +   |                    |
| Nr. 1a..... | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 1b.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 1c.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 1d.....     | 43,2     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 2a.....     | 42,4     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 2b.....     | 41,6     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 2c.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 2d.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 3a.....     | 0,4      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 3b.....     | 1,2      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 3c.....     | 37,6     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 3d.....     | 41,2     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 4a.....     | 38,0     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 4b.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 4c.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 4d.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 5a.....     | 0,8      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 5b.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 5c.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 5d.....     | 32,8     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 6a.....     | 0,8      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 6b.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 6c.....     | 43,2     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 6d.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 7a.....     | 39,6     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 7b.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 7c.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 7d.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 8a.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 8b.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 8c.....     | —        | ..  | ..  | — —                |
| 8d.....     | 40,4     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 9a.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 9b.....     | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 9c.....     | 28,4     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |
| 9d.....     | 33,6     | ..  | ..  | homothallisch 40 % |

ausschliesslich die beiden eingekreuzten Elterntypen wieder herauspalteten: Die sporulierenden Stämme zeigten die charakteristischen Sporenprozentzahlen von Kulturen des homothallischen 40 %/o-Typs, und die sporenfreien Stämme erwiesen sich in der Kombination mit heterothallischen Teststämmen als heterothallisch und dem Paarungstyp + angehörig. Die Resultate sind in Tabelle 18 zusammengestellt. In drei Fällen sind alle vier Einzelsporkulturen gekeimt, mit dem Ergebnisse von 2:2-Aufspaltungen in die Elterntypen.

Folglich schien tatsächlich ein weiteres Allel  $H^{40}$  nachgewiesen zu sein. Dem stand aber eine grosse Schwierigkeit im Wege: Von den fünf für die Bestimmung von Praereduktion und Postreduktion auswertbaren Asci zeigen alle ausnahmslose Praereduktion, wie aus Tabelle 19 hervorgeht. Wenn auch die Versuchsdaten sehr wenig zahlreich sind, so ist der Unterschied zum hohen prozentualen Anteile der Postreduktionen in den bisher besprochenen Kreuzungen (80,0 %/o, 74,2 %/o und 69,6 %/o) doch sehr deutlich. Auf Grund der Annahme von Allelie auch für ein Homothalliegen des 40 %/o-Typs hätten aber selbst innerhalb der wenigen vorliegenden Aufspaltungen einige Postreduktionen erwartet werden müssen. Bevor diese Diskrepanz mit der Erwartung eingehender diskutiert wird, sollen zunächst noch die Ergebnisse der reziproken Kreuzung homothallisch 40 %/o  $\times$  heterothallisch — zur Darstellung gebracht werden.

**Tabelle 19.**

Zusammenfassung der Aufspaltungen in homothallisch 40 %/o und heterothallisch +. Vgl. Text.

| Askus Nr.                       | a              | b              | c              | d              | Prae-red. | Post-red. |
|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|-----------|
| (Z 6 $\times$ 19b) . . . . . 1* | +              | ..             | ..             | 4 <sup>o</sup> | ..        | ..        |
| 2*                              | 4 <sup>o</sup> | 4 <sup>o</sup> | +              | +              | $\times$  | ..        |
| 3*                              | +              | +              | 4 <sup>o</sup> | 4 <sup>o</sup> | $\times$  | ..        |
| 4*                              | 4 <sup>o</sup> | ..             | ..             | +              | ..        | ..        |
| 5*                              | +              | ..             | ..             | 4 <sup>o</sup> | ..        | ..        |
| 6*                              | +              | +              | 4 <sup>o</sup> | ..             | $\times$  | ..        |
| 7*                              | 4 <sup>o</sup> | ..             | ..             | +              | ..        | ..        |
| 8*                              | +              | +              | ..             | 4 <sup>o</sup> | $\times$  | ..        |
| 9*                              | +              | +              | 4 <sup>o</sup> | 4 <sup>o</sup> | $\times$  | ..        |
| Total Aufspaltungen . . . 9     | ..             | ..             | ..             | ..             | 5         | 0         |

g) Die Kreuzung homothallisch 40 %/o  $\times$  heterothallisch —.

In derselben Weise wie in den vorangehenden Kreuzungen wurden der homothallische 40 %/o-Stamm Z 6 und der heterothal-

lische — - Stamm 19 a miteinander gekreuzt. Diese Kombination überraschte durch den hohen Prozentsatz von Aufspaltungen, der mit der Methode der Auswahl von Asci unregelmässiger Form erhalten wurde. Unter 47 mehr oder minder ausgekeimten Asci zeigten nicht weniger als 33 Asci Aufspaltungen. Wenn in diesem Falle auch nicht mehr als eine einzige Versuchsserie ausgeführt wurde, so ist der Unterschied zur vorhergehenden Kreuzung doch sehr bemerkenswert und lässt sich — da genau dieselben Versuchsbedingungen eingehalten worden sind — kaum durch verschiedene Aussenbedingungen erklären. Auch der Unterschied zu den Kreuzungen homothallisch  $90\% \times$  heterothallisch + bzw. —, wo nur etwa die Hälfte der isolierten Asci aufspalteten, ist recht deutlich. Offenbar zeigt der homothallische  $40\%$ -Stamm eine heterothallische + - Tendenz, da er wenig mit einem heterothallischen + - Stamme, dagegen mit Vorliebe mit einem heterothallischen — - Stamme kopuliert. Wieweit dies grundsätzlich für den  $40\%$ -Typ gilt, müssten allerdings vermehrte Versuche zeigen.

Wieder zeigte schon die oberflächliche Betrachtung der Tröpfchenkulturen in den Operationskammern, dass in den Aufspaltungen sowohl Kulturen des  $40\%$ -Typs wie auch Kulturen des  $0\%$ -Typs auftraten. Für 17 vollständig ausgekeimte Asci wurde dies durch die Auszählung von Malzagarsporenkulturen bestätigt, wie aus Tabelle 20 hervorgeht. Die Kombination der sporenfreien Kulturen mit den heterothallischen Teststämmen ergab denselben heterothallischen Paarungstyp, welchem der heterothallische Elter angehörte, nämlich —. Sämtliche 17 Asci spalteten im 2:2-Verhältnis auf, womit sich auch die unvollständigen Aufspaltungen der übrigen Asci vereinbaren liessen. Tabelle 21 fasst alle Ergebnisse der Kreuzung (Z 6  $\times$  19 a) zusammen. Die Bezeichnung »40« gibt Homothallie des  $40\%$ -Typs an und beruht bei den mit \* versehenen Aufspaltungen auf der Auszählung von Malzagar-Sporenkulturen, bei den übrigen Aufspaltungen auf der Schätzung der ungefähren Sporenprozentzahl der Tröpfchenkulturen in der feuchten Kammer. »—« bezieht sich auf Heterothallie des Paarungstyps — und wurde für die Kulturen der mit \* bezeichneten Asci durch Testung festgestellt, bezeichnet im übrigen aber lediglich die Annahme, dass parallel dazu sämtliche nachgewiesenen, sporenfreien Kulturen der Kreuzung diesem Paarungstyp angehören.

Die eigentümliche Beobachtung, dass in der Kreuzung des homothallischen  $40\%$ -Typs mit dem heterothallischen + - Typ aus-

**Tabelle 20.**

Aufspaltungen aus der Massenkombination eines homothallischen Stammes des 40<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-Typs (Z 6) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps — (19 a).

|             | Z 6 × 19a | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|-------------|-----------|----------|----------|----------|--------------------|
| Nr. 2a..... | 43,6      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 2b.....     | 33,2      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 2c.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 2d.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6a.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6b.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6c.....     | 38,8      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 6d.....     | 37,2      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 7a.....     | 34,0      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 7b.....     | 40,0      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 7c.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 7d.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 8a.....     | 40,4      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 8b.....     | 36,8      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 8c.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 8d.....     | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 14a.....    | 43,2      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 14b.....    | 40,0      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 14c.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 14d.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 15a.....    | 36,8      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 15b.....    | 38,4      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 15c.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 15d.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 18a.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 18b.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 18c.....    | 35,2      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 18d.....    | 36,8      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 19a.....    | 35,6      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 19b.....    | 39,6      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 19c.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 19d.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch. — |
| 20a.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 20b.....    | 0,0       | o        | o        | K        | heterothallisch —  |
| 20c.....    | 34,4      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |
| 20d.....    | 40,8      | ..       | ..       | ..       | homothallisch 40 % |

Tabelle 20. (Fortgesetzt).

| Z 6 × 19 a     | % Sporen | 19 a<br>— | 19 b<br>+ | Typ.               |
|----------------|----------|-----------|-----------|--------------------|
| 22 a . . . . . | 31,2     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 22 b . . . . . | 35,2     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 22 c . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 22 d . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 24 a . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 24 b . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 24 c . . . . . | 41,6     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 24 d . . . . . | 41,2     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 25 a . . . . . | 38,0     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 25 b . . . . . | 35,2     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 25 c . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 25 d . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 28 a . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 28 b . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 28 c . . . . . | 40,4     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 28 d . . . . . | 36,0     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 30 a . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 30 b . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 30 c . . . . . | 37,6     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 30 d . . . . . | 43,6     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 31 a . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 31 b . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 31 c . . . . . | 34,4     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 31 d . . . . . | 40,8     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 32 a . . . . . | 33,6     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 32 b . . . . . | 35,6     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 32 c . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 32 d . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 33 a . . . . . | 42,8     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 33 b . . . . . | 40,8     | ..        | ..        | homothallisch 40 % |
| 33 c . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |
| 33 d . . . . . | 0,0      | o         | K         | heterothallisch —  |

schliesslich Praereduktionen auftreten, wiederholte sich auch im Falle der vorliegenden Kreuzung mit einem — Stamme. Trotzdem hier ein umfangreicheres Material vorliegt — in 26 Asci liess die Anordnung der Sporen auf Praereduktion schliessen —, wurde keine einzige Postreduktion nachgewiesen. Wenn das Genpaar  $h^+ / h^-$  ebenfalls stets praereduziert hätte, so wäre die einfache, klare Allelie der drei Gene bewiesen gewesen. In Wirklichkeit aber liegt der Reduktionswert des Genpaares  $h^+ / h^-$  bei 40,0 %, und damit

**Tabelle 21.**

Zusammenfassung der Aufspaltungen in homothallisch  
40 % und heterothallisch —. Vgl. Text.

| Askus Nr.                 |     | a  | b  | c  | d  | Prae-<br>red. | Post-<br>red. |
|---------------------------|-----|----|----|----|----|---------------|---------------|
| (Z 6 × 19 a) . . . . .    | I   | —  | .. | .. | 40 | ..            | ..            |
|                           | 2*  | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 3   | —  | —  | .. | 40 | ×             | ..            |
|                           | 4   | 40 | 40 | .. | —  | ×             | ..            |
|                           | 5   | 40 | .. | —  | .. | ..            | ..            |
|                           | 6*  | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 7*  | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 8*  | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 9   | —  | —  | 40 | .. | ×             | ..            |
|                           | 10  | —  | .. | .. | 40 | ..            | ..            |
|                           | 11  | —  | —  | .. | 40 | ×             | ..            |
|                           | 12  | —  | —  | .. | 40 | ×             | ..            |
|                           | 13  | 40 | .. | .. | —  | ..            | ..            |
|                           | 14* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 15* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 16  | —  | —  | .. | 40 | ×             | ..            |
|                           | 17  | 40 | 40 | .. | —  | ×             | ..            |
|                           | 18* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 19* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 20* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 21  | —  | .. | 40 | .. | ..            | ..            |
|                           | 22* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 23  | —  | .. | .. | 40 | ..            | ..            |
|                           | 24* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 25* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 26  | 40 | .. | —  | .. | ..            | ..            |
|                           | 27  | 40 | 40 | —  | .. | ×             | ..            |
|                           | 28* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 29  | 40 | 40 | .. | —  | ×             | ..            |
|                           | 30* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 31* | —  | —  | 40 | 40 | ×             | ..            |
|                           | 32* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
|                           | 33* | 40 | 40 | —  | —  | ×             | ..            |
| Total Aufspaltungen . . . | 33  | .. | .. | .. | .. | 26            | 0             |

stehen die Reduktionswerte im Einklang, die für  $H^{90}/h^+$  und  $H^{90}/h^-$  berechnet wurden. Eine Klärung konnte eventuell von der letzten, noch ausstehenden Kreuzung erwartet werden, nämlich derjenigen zwischen den beiden homothallischen Rassen des 90 %-Typs und des 40 %-Typs.

### h) Die Kreuzung homothallisch 90 % $\times$ homothallisch 40 %.

Aus der Massenkombination der beiden homothallischen Typen wurden 40 Asci unregelmässiger Form isoliert. In keinem einzigen Falle wurde eine Aufspaltung in die beiden Typen erhalten. Jeder Ascus lieferte entweder nur Kulturen des 90 %-Typs oder ausschliesslich Kulturen des 40 %-Typs. Die homothallischen Typen scheinen demnach überhaupt nicht oder jedenfalls nur selten miteinander zu kopulieren. Aufschlüsse über die Vererbung des 40 %-Typs waren von dieser Kreuzung nicht zu erhalten.

### i) Zusammenfassung.

Die Kreuzungen der vier Geschlechtstypen von *Schizosaccharomyces Pombe* in allen möglichen, paarweisen Kombinationen führen mit Ausnahme der Kreuzung der beiden homothallischen Typen, welche nicht möglich zu sein scheint, zu 2:2-Aufspaltungen in die eingekreuzten Elterntypen. Dies deutet auf multiple Allelie der zugrundeliegenden Faktoren für Homothallie des 90 %-Typs, Homothallie des 40 %-Typs, Heterothallie des Paarungstyps + und Heterothallie des Paarungstyps -. Damit steht im Einklang, dass die drei paarweisen Kreuzungen zwischen dem homothallischen 90 %-Typ und den beiden heterothallischen Paarungstypen weitgehende Uebereinstimmung des Reduktionswertes zeigen. Er beträgt hier im Mittel 37,5 %. Dagegen wird für die beiden Kreuzungen zwischen dem homothallischen 40 %-Typ und den beiden heterothallischen Paarungstypen je ein Reduktionswert von 0,0 % gefunden, was mit der Auffassung im Widerspruch steht, dass auch der Faktor für Homothallie des 40 %-Typs ein Allel derselben Allelserie darstellt.

Die Anzahlen der Praereduktions- und Postreduktionstetraden sowie die Reduktionswerte der verschiedenen Kreuzungen sind in Tabelle 22 zusammengestellt. Trotz der relativ geringen Versuchszahlen ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen von Reduktionswerten sehr deutlich. Die statistische Behandlung ergibt, dass die Unterschiede in jedem einzelnen Falle vollständig gesichert sind. Tabelle 23 gibt die Werte von  $\chi^2$  und  $P$  des statistischen Vergleichs der Verteilung von Praereduktion und Postreduktion in den fünf verschiedenen Aufspaltungen. Der paarweise Vergleich der drei Kreuzungen zwischen hom. 90 %, het. + und het. - zeigt, dass die gefundenen Differenzen bei den vorliegenden Versuchszahlen in 40–70 % derartiger Versuche erreicht oder überschritten werden

können, wenn ein gemeinsames Grundverhältnis zwischen Prae- und Postreduktionen vorausgesetzt wird. Die Unterschiede dürfen demnach als zufällig betrachtet werden. Andererseits stimmen die beiden Kreuzungen (hom. 40 %  $\times$  het. +) und (hom. 40 %  $\times$  het. -) in dem Fehlen von Postreduktionen vollständig überein. Dagegen sind die Differenzen zwischen den Aufspaltungen der ersten Gruppe (der drei Kreuzungen zwischen hom. 90 %, het. + und het. -) und den Aufspaltungen der zweiten Gruppe (der beiden Kreuzungen zwischen hom. 40 % einerseits und het. + bzw. het. - andererseits) so bedeutsam, dass sie in jedem Falle paarweisen Vergleiches zweier Aufspaltungen als gesichert anzusehen sind. Selbst die kleinste Differenz (7 Prae- zu 16 Postreduktionen in der Aufspaltung hom. 90 %; het. -, und 5 Prae- zu 0 Postreduktionen in der Aufspaltung hom. 40 %; het. +) wird bei gleichen Versuchszahlen in bedeutend weniger als 1 % entsprechender Versuche erreicht oder überschritten, falls zufällige Abweichungen von einem gemeinsamen Grundverhältnis zwischen Prae- und Postreduktionen angenommen werden.

Aus den Ergebnissen geht ohne weiters hervor, dass es der homothallische 40 %-Typ ist, der in seinem Verhalten von den übrigen Typen abweicht. Die stetigen Praereduktionen in den Kreuzungen mit dem 40 %-Typ könnten sich prinzipiell auf verschiedene Ursachen zurückführen lassen. So liesse sich denken, dass alle vier Faktoren  $H^{90}$ ,  $H^{40}$ ,  $h^+$  und  $h^-$  als Allele denselben Genlocus in nächster Nähe der SFA innehätten und grundsätzlich praereduzierten, dass aber durch Kernvertauschungen während der Meiose im homothallischen 90 %-Typ und in den beiden heterothallischen Paarungstypen, bzw. in den Kreuzungen der drei Typen, die Praereduktion teilweise in scheinbare Postreduktion umgekehrt würde; während im homothallischen 40 %-Typ und seinen Kreuzungen ein dominantes Gen derartige Lagevertauschungen von Kernen in der Meiose verhindern würde. Wie aber anhand zytologischer Untersuchungen gezeigt worden ist, unterscheiden sich die verschiedenen Typen in Bezug auf die Lage der Spindeln und Kerne in der Meiose keineswegs. Stets trennt die erste Reifeteilung die beiden Tochterkerne soweit voneinander, dass eine Lagevertauschung von Kernen während der zweiten Teilung ausgeschlossen scheint. Somit fällt diese Erklärung dahin, und die Ursache für die ausschliessliche Praereduktion in den Kreuzungen des 40 %-Typs muss in einer Unterdrückung des crossing-overs, zum mindesten im Intervalle zwischen SFA und Locus der Gene  $H^{90}$ ,  $h^+$  und  $h^-$ ,

gesucht werden. Es liegt auf der Hand, dass selbst weit von der SFA entfernte Gene stets praereduziert werden, wenn kein crossing-over zwischen SFA und Genlocus stattfindet. Eine derartige Unterdrückung des Austausches könnte etwa durch eine Inversion in dem entsprechenden Chromosome des 40 %-Typs bewirkt werden. Allerdings lässt sich diese Annahme durch zytologische Untersuchungen nicht beweisen, denn hierzu sind die Verhältnisse bei den Hefen viel zu ungünstig. Doch liegt die Unterdrückung von crossing-over durch Inversion durchaus im Bereiche der Möglichkeiten.

**Tabelle 22.**

Die Reduktionswerte der Aufspaltungen in die verschiedenen Geschlechtstypen.

| Aufspaltung      | Anzahl Tetraden<br>mit |          | % T. mit<br>Postred.<br>= 2p | p =<br>Reduktionswert<br>in % |        |
|------------------|------------------------|----------|------------------------------|-------------------------------|--------|
|                  | Praered.               | Postred. |                              |                               |        |
| het. + : het. —  | 6                      | 24       | 80,0                         | 40,0                          | } 37,5 |
| hom. 90 : het. + | 8                      | 23       | 74,2                         | 37,1                          |        |
| hom. 90 : het. — | 7                      | 16       | 69,6                         | 34,8                          |        |
| hom. 40 : het. + | 5                      | 0        | 0,0                          | 0,0                           | } 0,0  |
| hom. 40 : het. — | 26                     | 0        | 0,0                          | 0,0                           |        |

**Tabelle 23.**

Statistischer Vergleich der Verteilung von Praereduktions- und Postreduktionstetraden innerhalb der Aufspaltungen in die verschiedenen Geschlechtstypen.

| Verglichene Aufspaltungstypen |                  |                  | $\chi^2$ | P      |
|-------------------------------|------------------|------------------|----------|--------|
| 1                             | het. + : het. —  | hom. 90 : het. + | 0,286    | 0,59   |
| 2                             | het. + : het. —  | hom. 90 : het. — | 0,786    | 0,38   |
| 3                             | het. + : het. —  | hom. 40 : het. + | 12,7     | < 0,01 |
| 4                             | het. + : het. —  | hom. 40 : het. — | 36,3     | < 0,01 |
| 5                             | hom. 90 : het. + | hom. 90 : het. — | 0,140    | 0,71   |
| 6                             | hom. 90 : het. + | hom. 40 : het. + | 10,4     | < 0,01 |
| 7                             | hom. 90 : het. + | hom. 40 : het. — | 32,4     | < 0,01 |
| 8                             | hom. 90 : het. — | hom. 40 : het. + | 8,7      | < 0,01 |
| 9                             | hom. 90 : het. — | hom. 40 : het. — | 26,7     | < 0,01 |
| 10                            | hom. 40 : het. + | hom. 40 : het. — | 0,0      | 1      |

Diese Interpretation erlaubt, den Faktor für Homothallie des 40 %-Typs trotz der ausschliesslichen Praereduktion als Allel  $H^{40}$  einer Allelserie  $H^{90}$ ,  $H^{40}$ ,  $h^+$ ,  $h^-$  aufzufassen. Eine derartige Deutung hat viel für sich, nachdem auch für den Homothalliefaktor des

90 %o-Typs bekannt ist, dass er zu den Heterothalliegenen allel sein muss. Doch ist die Annahme von Allelie keineswegs zwingend, da bei Unterdrückung des crossing-overs auch von nicht-allelen Genen derselben Koppelungsgruppe 2:2-Aufspaltungen erhalten werden müssen. Bei Annahme einer Inversion ist es nicht einmal notwendig, für den homothallischen 40 %o-Typ einen besonderen Faktor anzunehmen. Im Gegenteil mag dieser Typ eben durch Inversion aus dem homothallischen 90 %o-Typ entstanden sein, wobei die neue Genanordnung — also ein position effect — die phänotypische Auswirkung des Homothalliegenes  $H^{90}$  in Richtung geringerer Fertilität modifiziert hätte.

### III. DIE MUTATIONEN

#### *a) Die Mutationen der homothallischen Typen.*

Bei der Wiederkontrolle der Sporenbildungsfähigkeit älterer Einzelstämme des homothallischen 90 %o-Typs, die sechs Monate früher aus dem Ausgangsstamme isoliert und seither mehrmals überimpft worden waren, zeigten neun von elf Kulturen eine wesentlich verminderte Fertilität. Während die Prozentwerte der frisch isolierten Stämme ausnahmslos innerhalb der Fehlerbreite der Sporenbildung des 90 %o-Typs gelegen hatten, wurden jetzt Werte von 62,4 %o bis hinunter zu 20,8 %o Sporen nachgewiesen. Nach weiteren fünf Monaten wurden vier dieser Stämme wieder kontrolliert, mit dem Ergebnis, dass die Sporenbildung im einen noch 22,8 %o, in den drei andern nur noch 2,0 %o, 2,0 %o und 1,6 %o betrug. Damit hatte sich die Sporenbildungsfähigkeit aller elf Stämme im Laufe der Zeit deutlich vermindert. Die Resultate sind in Tabelle 24 zusammengestellt. Fig. 12 stellt die Entwicklung der vier nach elf Monaten wieder kontrollierten Stämme graphisch dar.

Durch Isolationen von Einzelzellkulturen aus den veränderten Stämmen sollte festgestellt werden, ob diese Fertilitätsverminderung als ein physiologisches Phänomen die Stämme als Ganzes betraf, oder ob Selektion von minder fertilen, im Laufe der Zeit aufgetretenen Mutationen stattgefunden hatte. Am ehesten war die Isolation steriler Rassen zu erwarten, die den ursprünglichen, homothallischen Typ in den verschiedenen Stämmen mehr oder weniger verdrängt hatten. Solche sterilen Stämme waren bereits aus dem Ausgangsstamme isoliert worden, und es ist eine wohlbekannte Erfahrung, dass die Sporenbildungsfähigkeit der Laboratoriums-

**Tabelle 24.**

Sporenprozentwerte homothallischer Stämme des 90 %-  
 Typs kurz nach der Isolation, 6 Monate nach der Isola-  
 tion und 11 Monate nach der Isolation.

| Nr.        | % Sporen kurz<br>nach der Iso-<br>lation | % Sporen nach<br>6 Monaten | % Sporen nach<br>11 Monaten |
|------------|------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Z 24 ..... | 86,8                                     | 47,6                       | ..                          |
| Z 27 ..... | 89,6                                     | 32,8                       | ..                          |
| Z 38 ..... | 86,8                                     | 50,0                       | ..                          |
| Z 42 ..... | 87,2                                     | 48,8                       | ..                          |
| Z 59 ..... | 85,6                                     | 33,6                       | ..                          |
| Z 73 ..... | 82,8                                     | 35,6                       | ..                          |
| Z 77 ..... | 88,0                                     | 45,2                       | ..                          |
| 1 b. ....  | 89,2                                     | 62,4                       | 1,6                         |
| 2 a. ....  | 88,4                                     | 84,4                       | 22,8                        |
| 2 b. ....  | 88,0                                     | 20,8                       | 2,0                         |
| 2 c. ....  | 86,4                                     | 78,4                       | 2,0                         |

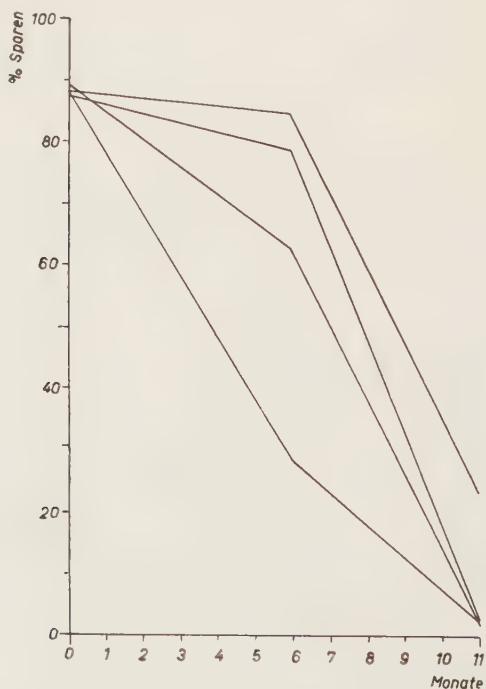


Fig. 12. Die Entwicklung des Sporenbildungsvermögens von vier homothal-  
 lischen Stämmen des 90 %-Typs im Laufe von 11 Monaten. Vgl. Tab 24.

**Tabelle 25.**

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 25 Einzelzellkulturen aus einem sechs Monate alten, homothallischen Stamme des 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-Typs (1 b: Sporenprozentwert kurz nach der Isolation = 89,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, sechs Monate nach der Isolation = 62,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>).

| Nr.       | % Sporen | 19a | 19b | Typ                                          |
|-----------|----------|-----|-----|----------------------------------------------|
|           |          | —   | +   |                                              |
| Z 1 ..... | 87,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 2 .....   | 86,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 3 .....   | 0,8      | 0   | K   | heterothallisch +                            |
| 4 .....   | 0,0      | 0   | K   | heterothallisch +                            |
| 5 .....   | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 6 .....   | 88,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 7 .....   | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 8 .....   | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 9 .....   | 79,2     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 10 .....  | 89,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 11 .....  | 86,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 12 .....  | 80,8     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 13 .....  | 82,4     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 14 .....  | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 15 .....  | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 16 .....  | 84,8     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 17 .....  | 0,4      | 0   | K   | heterothallisch +                            |
| 18 .....  | 0,4      | 0   | K   | heterothallisch +                            |
| 19 .....  | 0,0      | 0   | 0   | steril                                       |
| 20 .....  | 89,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 21 .....  | 88,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 22 .....  | 87,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 23 .....  | 86,8     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |
| 24 .....  | 0,0      | 0   | K   | heterothallisch +                            |
| 25 .....  | 89,2     | ..  | ..  | homothallisch 90 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> |

kulturen von Hefen infolge des Auftretens steriler Mutanten mit der Zeit oft zurückgeht und selbst irreversibel verloren gehen kann. — Die Ergebnisse der Isolierungen aus dreien der veränderten Stämme sind in den Tabellen 25, 26 und 27 dargestellt. Tab. 25 umfasst 25 Einzelzellkulturen aus dem sechs Monate alten Stamme 1b. Wie ersichtlich, gehören manche der Kulturen noch dem ursprünglichen, homothallischen 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-Typ an. Daneben aber sind neue, nicht sporulierende Kulturen des 0<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-Typs aufgetreten. Es ist demnach der Stamm 1b nach Verlauf von sechs Monaten eine Mischung sporulierender und nicht sporulierender Zellen, was den verminderten

Tabelle 26.

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 25 Einzelzellkulturen aus einem sechs Monate alten, homothallischen Stamme des 90 % - Typs (Z 27: Sporenprozentwert kurz nach der Isolation = 89,6 %, sechs Monate nach der Isolation = 32,8 %).

| Nr.      | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| Z 1..... | 86,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2.....   | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 3.....   | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4.....   | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 5.....   | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6.....   | 86,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 7.....   | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 8.....   | 88,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 9.....   | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 10.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 11.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 12.....  | 77,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 13.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 14.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 15.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 16.....  | 78,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 17.....  | 1,6      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 18.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 19.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 20.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 21.....  | 85,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 22.....  | 0,0      | o        | o        | steril             |
| 23.....  | 83,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 24.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 25.....  | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +  |

Sporenprozentsatz von 62,4 % erklärt. Soweit stimmen die Ergebnisse mit der Erwartung überein. Unerwartet aber ist das Resultat der Testkombinationen der nicht sporulierenden Stämme mit heterothallischen Teststämmen. Denn hier erweist sich wohl ein Teil dieser Kulturen als steril. Rund die Hälfte der Stämme aber zeigt zahlreiche Kopulationen mit dem — -Teststamm und gehört demnach dem heterothallischen Paarungstyp + an. Es finden sich also unter den 25 Einzelzellkulturen drei verschiedene Typen von Zellen: homothallisch 90 %, heterothallisch + und steril. Dieselben drei Typen wurden in einer zweiten Gruppe von 25 Einzelzellkulturen

**Tabelle 27.**

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 25 Einzelzellkulturen aus einem sechs Monate alten, homothallischen Stamme des 90 %o-Typs (Z 59: Sporenprozentwert kurz nach der Isolation = 85,6 %o, sechs Monate nach der Isolation = 33,6 %o).

| Nr.       | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                 |
|-----------|----------|----------|----------|---------------------|
| Z 1 ..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 2 .....   | 87,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |
| 3 .....   | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 4 .....   | 80,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |
| 5 .....   | 1,6      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 6 .....   | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 7 .....   | 2,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 8 .....   | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 9 .....   | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 10 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 11 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 12 .....  | 84,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |
| 13 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 14 .....  | 86,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |
| 15 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 16 .....  | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —   |
| 17 .....  | 82,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |
| 18 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 19 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 20 .....  | 1,6      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 21 .....  | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 22 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 23 .....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +   |
| 24 .....  | 0,0      | o        | o        | steril              |
| 25 .....  | 79,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 %o |

des Stammes 1b (in Tab. 25 nicht angeführt) angetroffen. Offensichtlich sind sowohl der heterothallische + -Typ wie auch der sterile Typ aus dem ursprünglichen, homothallischen 90 %o-Typ durch Mutation entstanden. — Tab. 26 und 27 beschreiben den Geschlechtstyp von je 25 Einzelzellkulturen der sechs Monate alten Stämme Z 27 und Z 59. Die beiden Stämme zeigten in diesem Zeitpunkt noch einen Sporenprozentsatz von 32,8 %o bzw. 33,6 %o. Unter den isolierten Kulturen werden neben dem ursprünglichen, homothallischen 90 %o-Typ auch hier wieder der heterothallische Paarungstyp + und der sterile Typ angetroffen. Neu und überraschend ist, dass

einige wenige sporenfreie Kulturen nicht mit dem Teststamme des Paarungstyps —, dagegen intensiv mit dem Teststamme des Paarungstyps + kopulieren. Sie gehören demnach dem Paarungstyp — an.

Nach diesen Ergebnissen zeigt also der homothallische 90 % -Typ die Möglichkeit der Mutation zu heterothallisch +, heterothallisch — und steril. Ob allerdings die drei Mutationen unabhängig voneinander auftreten, oder ob in bestimmter Reihenfolge die eine Mutation aus der anderen entsteht, ist auf Grund der beschriebenen Versuchsergebnisse nicht zu entscheiden. Hierzu müsste jede Mutation einzeln direkt nachgewiesen werden. Immerhin scheint jedenfalls der heterothallische Paarungstyp + direkt aus dem homothallischen Ausgangstyp entstehen zu können, da er in allen drei untersuchten Stämmen relativ häufig auftritt. Die weiter unten zu besprechenden Resultate über Mutationen in den heterothallischen Typen lassen vermuten, dass dies auch für den heterothallischen Paarungstyp — gilt. Der sterile Typ endlich liess sich auch in älteren heterothallischen Stämmen nie nachweisen, sodass er nicht aus einer heterothallischen Mutation entstanden sein kann, sondern direkt aus dem homothallischen Ausgangstyp hervorgegangen sein muss.

Im Gegensatz zur Mutabilität des homothallischen 90 % -Typs erweist sich der homothallische 40 % -Typ als stabil. In keinem von acht Einzelstämmen der Isolationen aus dem Ausgangsstamm wurde bei der Kontrolle der Sporenbildungsfähigkeit nach sechs Monaten ein Sporenprozentsatz gefunden, der nicht in der Variationsbreite der Sporenbildung des 40 % -Typs gelegen hätte. Einer der Stämme wurde nach einem Jahr wieder kontrolliert und ergab auch dann noch 39,6 % Sporen.

#### *b) Die Mutationen der heterothallischen Typen.*

Es war bereits bei den ersten Isolationen aus dem Ausgangsstamme aufgefallen, dass die heterothallischen Kulturen des Paarungstyps + in der Einzelsporkultur auf Malzagar bisweilen wenige Sporen (höchstens ca. 3 %) ausbilden, ohne dass diese Erscheinung aber für bestimmte + -Stämme konstant wäre. Sollte dies bedeuten, dass unter Umständen auch Zellen desselben Paarungstyps + paarweise miteinander kopulieren könnten? Oder war diese Sporenbildung innerhalb der + -Kulturen auf die Mutation einzelner Zellen zum entgegengesetzten Paarungstyp — oder sogar zu homothallischen Typen zurückzuführen?

Die Isolierung von Sporen derartiger Ausnahmesoci musste

die Antwort geben. Tabelle 28 zeigt die Resultate von Isolationen aus dem heterothallischen Stamme 7 a, einer Kultur des Paarungstyps +, welche im Augenblick der Isolationen während sechs Monaten in Kultur gehalten worden war. Die verwendete Sporenkultur auf Malzagar liess 2,4 % Sporen auszählen. Wie aus der Tabelle hervorgeht, lassen sich unter den Ausnahmeasci drei Typen unterscheiden: 1) Asci, welche vier homothallische Kulturen des 90 %-Typs liefern. 2) Asci, welche 2:2-Aufspaltungen in die beiden heterothallischen Paarungstypen + und - zeigen. Und 3) Asci, welche in zwei homothallische Kulturen des 90 %-Typs und zwei heterothallische Kulturen des Paarungstyps + aufspalten. Der untersuchte + -Stamm musste demnach drei Arten von Zellen enthalten: Solche des ursprünglichen, heterothallischen Paarungstyps +, daneben aber neu Zellen des heterothallischen Paarungstyps - und des homothallischen 90 %-Typs. Die letzten beiden Typen müssen durch Mutation entstanden sein. Die geringe Zahl der Ausnahmeasci zeigt, dass sie im Vergleich zum Ursprungstyp nur schwach vertreten sind. Dies erklärt auch, weshalb wohl Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch +, nicht aber Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch - angetroffen werden: Die Wahrscheinlichkeit der Kopulation einer Zelle des homothallischen 90 %-Typs mit einer Zelle des heterothallischen Paarungstyps - ist zu gering, als dass Aufspaltungen in diese beiden Typen unter den 16 Ausnahmeasci erwartet werden könnten. - Dass diese Mutationen von heterothallisch + nach homothallisch 90 % und heterothallisch - nicht ein vereinzelt Phaenomen des vorliegenden Stammes darstellen, zeigen die Isolationen aus einem zweiten, sechs Monate alten Stamme des Paarungstyps +, der Kultur Nr. 7c: Wie aus Tabelle 29 zu ersehen ist, finden sich hier dieselben drei Typen von Ausnahmeasci wieder.

Von Interesse ist, dass unter den heterothallischen Stämmen des Paarungstyps -, die als Mutationen aus den +-Stämmen isoliert worden sind, eine ganze Anzahl zu schwacher Sporenbildung befähigt sind. In den Tabellen 28 und 29 werden Sporenprozentwerte bis zu ca. 3 % angetroffen. Es scheint, dass frisch durch Mutation entstandene --Stämme eine grössere Mutabilität besitzen als ältere Stämme. Denn bisher waren in den aus der Ausgangskultur und aus den Kreuzungen isolierten Stämmen des heterothallischen Paarungstyps - nie Sporen beobachtet worden. Dass diese Sporenbildung in den --Stämmen ebenfalls auf Mutationen beruhte, schien

Tabelle 28.

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 56 Einzelspor-  
kulturen aus einem heterothallischen Stamme des Paa-  
rungstyps+ (7 a: Sporenprozentwert der verwendeten  
Kultur = 2,4 ‰).

| Nr.      | ‰ Sporen | 19 a | 19 b | Typ                |
|----------|----------|------|------|--------------------|
|          |          | —    | +    |                    |
| 1 a..... | 90,0     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 1 b..... | 85,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 1 c..... | 90,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 1 d..... | 87,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 2 a..... | 2,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 2 b..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 2 c..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 2 d..... | 1,6      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 3 a..... | 86,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 3 b..... | 88,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 3 c..... | 86,0     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 3 d..... | 86,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 4 a..... | 0,8      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 4 b..... | 0,8      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 4 c..... | 2,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 4 d..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 5 a..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 5 b..... | 0,4      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 5 c..... | 1,6      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 5 d..... | 1,2      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 6 a..... | 2,4      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 6 b..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 6 c..... | 0,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 6 d..... | 1,2      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 7 a..... | 0,4      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 7 b..... | 89,2     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 7 c..... | 88,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 7 d..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 8 a..... | 88,0     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 8 b..... | 90,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 8 c..... | 87,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 8 d..... | 80,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 9 a..... | 88,0     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |
| 9 b..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 9 c..... | 0,0      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 9 d..... | 78,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 ‰ |

Tabelle 28. (Fortgesetzt)

| Nr.      | % Sporen | 19a | 19b | Typ                |
|----------|----------|-----|-----|--------------------|
|          |          | —   | +   |                    |
| 10a..... | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 10b..... | 86,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 10c..... | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 10d..... | 84,8     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 11a..... | 84,0     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 11b..... | 87,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 11c..... | 84,4     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 11d..... | —        | ..  | ..  | — —                |
| 12a..... | 89,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 12b..... | 87,2     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 12c..... | 0,4      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 12d..... | 1,2      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 13a..... | 0,8      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 13b..... | 2,8      | o   | K   | heterothallisch —  |
| 13c..... | —        | ..  | ..  | — —                |
| 13d..... | 2,0      | o   | K   | heterothallisch —  |
| 14a..... | 1,2      | o   | K   | heterothallisch —  |
| 14b..... | —        | ..  | ..  | — —                |
| 14c..... | —        | ..  | ..  | — —                |
| 14d..... | —        | ..  | ..  | — —                |
| 15a..... | 1,6      | o   | K   | heterothallisch —  |
| 15b..... | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 15c..... | 2,0      | o   | K   | heterothallisch —  |
| 15d..... | 0,0      | K   | o   | heterothallisch +  |
| 16a..... | 81,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 16b..... | 85,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 16c..... | 83,6     | ..  | ..  | homothallisch 90 % |
| 16d..... | —        | ..  | ..  | — —                |

nach den Ergebnissen an +-Stämmen wahrscheinlich. Den Beweis lieferte auch hier wieder die Isolierung von Ausnahmeasci. Die Tabellen 30 und 31 fassen die Resultate von Isolationen aus den Stämmen Nr. 7c/5a und 7c/5d zusammen. Beide Kulturen waren kurz zuvor als Mutanten des Paarungstyps — aus dem heterothallischen +-Stamm 7c isoliert worden und hatten 1,6 % bzw. 3,2 % Sporen geliefert (vgl. Tab. 29). Auch hier wurden aus beiden Stämmen drei Typen von Asci isoliert, und zwar sind es hier: 1) Asci, deren vier Einzelsporkulturen dem homothallischen 90 %-Typ angehören. 2) Asci, welche im Verhältnis 2:2 in die beiden heterothallischen Paarungstypen + und — aufspalten. Und 3) Asci mit 2:2-Auf-

Tabelle 29.

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 42 Einzelspor-  
kulturen aus einem heterothallischen Stamme des Paa-  
rungstyps + (7 c: Sporenprozentwert der verwendeten  
Kultur = 3,2 %).

| Nr.      | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| 1a.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1b.....  | 86,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 1c.....  | —        | ..       | ..       | — —                |
| 1d.....  | 83,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2a.....  | 86,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2b.....  | 87,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2c.....  | 82,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 2d.....  | 90,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3a.....  | 84,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3b.....  | 88,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 3c.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 3d.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 4a.....  | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4b.....  | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 4c.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 4d.....  | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 5a.....  | 1,6      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 5b.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 5c.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 5d*..... | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6a.....  | 86,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 6b.....  | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 6c.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 6d.....  | 89,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 7a.....  | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 7b.....  | 2,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 7c.....  | 1,2      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 7d.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 8a.....  | 2,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 8b.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 8c.....  | 2,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 8d.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 9a.....  | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 9b.....  | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 9c.....  | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 9d.....  | 1,2      | o        | K        | heterothallisch —  |

**Tabelle 29.** (Fortgesetzt)

| Nr.      | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| 10a..... | 81,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 10b..... | 2,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 10c..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 10d..... | 78,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 11a..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch —  |
| 11b..... | 1,2      | o        | K        | heterothallisch +  |
| 11c..... | 0,0      | o        | K        | heterothallisch +  |
| 11d..... | —        | ..       | ..       | — —                |

\* 7c/5d: Die frisch isolierte Kultur im hängenden Tröpfchen zeigt einen homothallischen Sektor des 90 %-Typs (vgl. Fig. 14).

|                               | % Sporen | Typ                |
|-------------------------------|----------|--------------------|
| Ausgangsstamm, isoliert ..... | 0,4      | heterothallisch —  |
| Mutante, isoliert .....       | 83,2     | homothallisch 90 % |
| Gesamtkultur .....            | 3,2      | Gemisch            |

**Tabelle 30.**

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 32 Einzelsporenkulturen aus einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps — (7 c/5 a: Sporenprozentwert der verwendeten Kultur = 1,6 %).

| Nr.      | % Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|----------|----------|----------|----------|--------------------|
| 1a.....  | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1b.....  | 1,2      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1c.....  | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 1d.....  | —        | ..       | ..       | — —                |
| 2a.....  | 0,8      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 2b*..... | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 2c.....  | —        | ..       | ..       | — —                |
| 2d.....  | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 3a.....  | 1,2      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 3b.....  | 0,4      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 3c.....  | 0,8      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 3d.....  | 1,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4a.....  | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4b.....  | 84,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |
| 4c.....  | —        | ..       | ..       | — —                |
| 4d.....  | 93,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 % |

**Tabelle 30.** (Fortgesetzt)

| Nr.         | % Sporen | 19 a | 19 b | Typ                |
|-------------|----------|------|------|--------------------|
|             |          | —    | +    |                    |
| 5a.....     | 86,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 5b.....     | 86,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 5c.....     | 82,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 5d.....     | —        | ..   | ..   | — —                |
| 6a.....     | 85,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 6b.....     | —        | ..   | ..   | — —                |
| 6c.....     | —        | ..   | ..   | — —                |
| 6d.....     | —        | ..   | ..   | — —                |
| 7a.....     | 0,4      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 7b.....     | 0,4      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 7c.....     | 1,2      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 7d.....     | 0,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 8a.....     | 78,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 8b**.....   | 0,4      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 8c.....     | 89,2     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 8d.....     | 0,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 9a.....     | 78,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 9b.....     | 84,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 9c.....     | 0,8      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 9d.....     | 1,2      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 10a***..... | 1,6      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 10b.....    | 2,4      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 10c.....    | 0,8      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 10d.....    | —        | ..   | ..   | — —                |

\* 7c/5a/2b: Die frisch isolierte Kultur im hängenden Tröpfchen zeigt einen jungen, homothallischen Sektor des 90 %-Typs (vgl. Fig. 13).

|                               | % Sporen | Typ                |
|-------------------------------|----------|--------------------|
| Ausgangsstamm, isoliert ..... | 0,8      | heterothallisch +  |
| Mutante, isoliert .....       | 79,6     | homothallisch 90 % |
| Gesamtkultur .....            | 2,8      | Gemisch            |

\*\* 7c/5a/8b: Die frisch isolierte Kultur im hängenden Tröpfchen zeigt einen homothallischen Sektor des 90 %-Typs (vgl. Taf. V, Abb. a).

|                               |      |                    |
|-------------------------------|------|--------------------|
| Ausgangsstamm, isoliert ..... | 0,4  | heterothallisch —  |
| Mutante, isoliert .....       | 87,6 | homothallisch 90 % |
| Gesamtkultur .....            | 42,4 | Gemisch            |

\*\*\* 7c/5a/10a: Die frisch isolierte Kultur im hängenden Tröpfchen zeigt einen heterothallischen Sektor des entgegengesetzten Paarungstyps (vgl. Taf. V, Abb. b und Fig. 15).

|                               |      |                   |
|-------------------------------|------|-------------------|
| Ausgangsstamm, isoliert ..... | 1,6  | heterothallisch — |
| Mutante, isoliert .....       | 0,0  | heterothallisch + |
| Gesamtkultur .....            | 41,6 | Gemisch           |

**Tabelle 31.**

Sporenbildung und Geschlechtstypen in 37 Einzelspor-  
kulturen aus einem heterothallischen Stamme des Paa-  
rungstyps — (7 c/5 d: Sporenprozentwert der verwen-  
deten Kultur = 3,2 ‰).

| Nr.     | ‰ Sporen | 19a<br>— | 19b<br>+ | Typ                |
|---------|----------|----------|----------|--------------------|
| 1a..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 1b..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 1c..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 1d..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 2a..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 2b..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 2c..... | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 2d..... | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 3a..... | 0,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 3b..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 3c..... | 0,8      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 3d..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 4a..... | 90,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 4b..... | 0,8      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4c..... | 1,2      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 4d..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 5a..... | 1,6      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 5b..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 5c..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 5d..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 6a..... | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 6b..... | 89,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 6c..... | 88,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 6d..... | 2,0      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 7a..... | 1,2      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 7b..... | 87,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 7c..... | 86,8     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 7d..... | —        | ..       | ..       | — —                |
| 8a..... | 90,0     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 8b..... | 83,6     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 8c..... | 87,2     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 8d..... | 86,4     | ..       | ..       | homothallisch 90 ‰ |
| 9a..... | 0,4      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 9b..... | 0,0      | K        | o        | heterothallisch +  |
| 9c..... | 2,8      | o        | K        | heterothallisch —  |
| 9d..... | 4,8      | K        | o        | heterothallisch +  |

**Tabelle 31.** (Fortgesetzt)

| Nr.      | % Sporen | 19 a | 19 b | Typ                |
|----------|----------|------|------|--------------------|
|          |          | —    | +    |                    |
| 10a..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 10b..... | 78,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 10c..... | 83,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 10d..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 11a..... | 1,2      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 11b..... | 0,8      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 11c..... | 0,8      | K    | o    | heterothallisch +  |
| 11d..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 12a..... | 85,6     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 12b..... | 84,4     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 12c..... | 82,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 12d..... | 86,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 13a..... | 0,0      | o    | K    | heterothallisch —  |
| 13b..... | 88,8     | ..   | ..   | homothallisch 90 % |
| 13c..... | —        | ..   | ..   | — —                |
| 13d..... | —        | ..   | ..   | — —                |

spaltungen in zwei homothallische Kulturen des 90 %-Typs und zwei heterothallische Kulturen des Paarungstyps —. Diese beiden Stämme mussten demnach dieselben drei Typen von Zellen enthalten, die sich auch aus ursprünglichen + -Stämmen hatten isolieren lassen, nämlich Zellen der Typen heterothallisch —, heterothallisch + und homothallisch 90 %. Doch waren in diesem Falle der heterothallische + -Typ und der homothallische 90 %-Typ als neuentstandene Mutanten stark in der Minderzahl, weshalb jetzt wohl Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch —, nicht aber Aufspaltungen in homothallisch 90 % und heterothallisch + angetroffen werden. Denn die Wahrscheinlichkeit der Kopulation einer homothallischen Zelle mit einer der sie rund umgebenden heterothallischen Zellen des Paarungstyps — ist gross, diejenige der Kopulation mit einer der wenigen heterothallischen Zellen der Paarungstyps + dagegen gering.

Somit ist nachgewiesen, dass beide heterothallischen Paarungstypen einerseits zum homothallischen 90 %-Typ und andererseits zum entgegengesetzten heterothallischen Paarungstyp mutieren können. Ob allerdings alle diese Mutationen direkt verlaufen, oder ob sie in bestimmter Reihenfolge auseinander hervorgehen (so dass etwa der entgegengesetzte, heterothallische Paarungstyp nicht direkt aus dem heterothallischen Ausgangstyp, sondern über die Zwischen-

stufe der homothallischen Mutante entstünde), lässt sich aus dem vorliegenden Material nicht mit Bestimmtheit entscheiden.

Doch sprechen einige Beobachtungen an heterothallischen Tröpfchenkulturen in der Operationskammer mit Sicherheit dafür, dass drei der vier bei heterothallischen Stämmen nachgewiesenen Mutationen direkt vor sich gehen. In der Einzelkultur im hängenden Tröpfchen, welche sich aus einer einzelnen, isolierten Zelle oder Spore entwickelt, müssen sich im Laufe des Wachstums auftretende Mutationen des Geschlechtstyps als Sektoren manifestieren, wenn sie sich dem Ausgangstyp gegenüber genügend durchzusetzen vermögen. Denn in der Tröpfchenkultur der feuchten Kammer sind die Bedingungen gegeben, welche homothallische Stämme oder Kombinationen heterothallischer + -und - -Stämme zur Sporenbildung veranlassen und damit von isolierten, heterothallischen Stämmen unterscheiden. Mutationen von homothallisch zu heterothallisch oder steril, die im Laufe des Wachstums einer Einzelzell- oder Einzelsporkultur im hängenden Tröpfchen auftreten, sollten sich beispielsweise als sporenfreie Sektoren innerhalb der reich sporulierenden Kultur zu erkennen geben, und umgekehrt sind sporenreiche Sektoren innerhalb nicht sporulierender, heterothallischer Einzelkulturen zu erwarten, wenn während des Wachstums Mutationen zu homothallisch eingetreten sind. Endlich wäre vor auszusehen, dass die Mutation einer heterothallischen Zelle zum entgegengesetzten, heterothallischen Paarungstyp zu einem sporenfreien Sektor innerhalb einer sporenfreien Kultur führen müsste, derart aber, dass Ausgangstamm und Sektor durch eine sporenführende Reaktionslinie voneinander getrennt wären — dies alles unter der Voraussetzung, dass die Mutationen sich in der Konkurrenz mit dem Ausgangstamme genügend durchzusetzen vermögen. Derartige Sektoren sind für morphologische Merkmale der Ausbildung der Riesenkultur auf festem Medium eine bei Hefen wohlbekannte Erscheinung (SKOVSTED, 1943; WINGE, 1944).

Tatsächlich sind einzelne solcher Sektoren in heterothallischen Einzelkulturen beobachtet worden. Fig. 13 zeigt beginnende Sektorbildung am Rande einer heterothallischen Einzelsporkultur des Paarungstyps +, fünf Tage nach der Isolation. Innerhalb ungezählter heterothallischer, vegetativer Zellen findet sich eine isolierte Gruppe von zehn Asci mehr oder weniger regelmässiger Form. Die Isolierung von Sporen und Kultivierung der Einzelsporkulturen zeigt Homothallie des 90  $\frac{0}{0}$ -Typs. Folglich liegt direkte Mutation von

heterothallisch + zu homothallisch 90 % vor. — Fig. 14, Abb. a ist die schematische Abbildung einer heterothallischen Tröpfchenkultur des Paarungstyps — mit einem homothallischen Sektor des 90 %-Typs bei schwächerer Vergrößerung, 5 Tage nach der Isolation. Der Unterschied zwischen der sporenfreien Ausgangskultur



Fig. 13. Mutation in einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps + (7c/5a/2b, vgl. Tab. 30). Beginn der Ausbildung eines homothallischen Sektors des 90 %-Typs innerhalb der frisch isolierten Einzelsporkultur im hängenden Tröpfchen. Der Kulturrand bei 700-facher Vergrößerung, 5 Tage nach der Isolation.

und dem sporenführenden Sektor ist bereits bei der schwachen Vergrößerung deutlich zu erkennen. Abb. b zeigt den Kulturrand an der Sektorgrenze bei stärkerer Vergrößerung. Bereits die vorwiegend regelmässige Form der Asci des sporulierenden Sektors, die auf der Kopulation von Schwesterzellen beruht, deutet auf Homothallie der Mutante. Die Isolation von Zellen und Sporen des Sektors liefert denn auch einen Stamm, der sich in der Sporenkultur auf Malzagar als homothallische Kultur des 90 %-Typs erweist. — Eine zweite, heterothallische Kultur des Paarungstyps — mit einem homothallischen Sektor des 90 %-Typs ist auf Tafel V Abb. a in der Photo-



Fig. 14. Mutation in einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps — (7c/5d, vgl. Tab. 29). Ausbildung eines homothallischen Sektors des 90 %-Typs innerhalb der frisch isolierten Einzelsporkultur im hängenden Tröpfchen.

Abb. a) Die Kultur bei 60-facher Vergrößerung, den homothallischen Sektor zeigend, 5 Tage nach der Isolation. Schematisch.

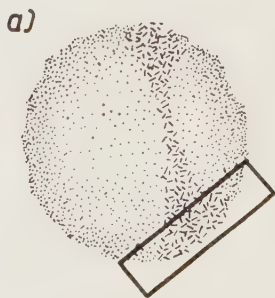
Abb. b) Der Kulturrand an der Sektorgrenze, bei 700-facher Vergrößerung.



Fig. 15. Mutation in einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps — (7c/5a/10a, vgl. Tab. 30). Ausbildung eines heterothallischen Sektors des Paarungstyps + innerhalb der frisch isolierten Einzelsporkultur im hängenden Tröpfchen.

Abb. a) Die Kultur bei 60-facher Vergrößerung, den mutierten Sektor und seine Begrenzung durch eine Reaktionslinie zeigend, 5 Tage nach der Isolation. Schematisch.

Abb. b) Der Kulturrand an der Sektorgrenze, die Ascusbildung in der Reaktionslinie zeigend, bei 700-facher Vergrößerung.



graphie bei schwächerer Vergrößerung dargestellt. Deutlich ist der Unterschied zwischen dem homogenen Kulturbild der heterothallischen, sporenfreien Ausgangskultur und dem aufgelockerten Kulturbild des sporenenreichen homothallischen Sektors zu erkennen. Die Kultur ist sieben Tage alt und zeigt im mutierten Sektor bereits zur Hauptsache freie Einzelsporen und nur noch wenige Kopulationen und intakte Asci. — Abb. b der Tafel V ist die Photographie einer 7-tägigen, heterothallischen Kultur des Paarungstyps —, welche dadurch auffällt, dass eine deutliche, helle, aufgelockerte Zone die ganze, im übrigen dichte und homogene Kultur in zwei ungleich grosse Teile von gleichem Kulturbild scheidet. Der kleinere Teil besitzt die Form eines sehr stumpfen Sektors. Fig. 15, Abb. a stellt dieselbe Kultur bei gleicher Vergrößerung schematisch dar. Abb. b zeigt den Kulturrand an der Sektorgrenze bei stärkerer Vergrößerung, fünf Tage nach der Isolation. Die sporenführende Zone zeigt zu diesem Zeitpunkte viele Asci unregelmässiger Form. Die Vermutung, dass der grössere Abschnitt der Kultur dem ursprünglichen heterothallischen Paarungstyp —, der Sektor dem entgegengesetzten Paarungstyp + angehöre, bestätigte sich einwandfrei in der Testung der heterothallischen Kulturen, die sich durch Zellisolierungen aus den beiden Kulturabschnitten gewinnen liessen. Die sporenführende Zone zwischen den beiden Abschnitten ist demnach nichts anderes als die Reaktionslinie zwischen den beiden Paarungstypen. Damit ist direkte Mutation von Heterothallie des Paarungstyps — zu Heterothallie des Paarungstyps + nachgewiesen.

Mutationen der heterothallischen Typen zum homothallischen 40 %-Typ wurden nicht angetroffen, so wenig wie Mutationen innerhalb des 40 %-Typs selbst. Wie in anderen Punkten unterscheidet sich der homothallische 40 %-Typ auch hierin deutlich vom homothallischen 90 % Typ.

Im Gegensatz zur regelmässigen Verminderung der Fertilität homothallischer 90 %-Stämme im Laufe der Zeit bleibt die Fertilität heterothallischer Stämme während Monaten unverändert erhalten. Die in den Untersuchungen verwendeten heterothallischen Teststämme zeigten noch nach zehn Monaten unverminderte Reaktionsstärke in den Kombinationen mit Stämmen des entgegengesetzten Paarungstyps. Ob dies tatsächlich eine verschiedene Stabilität in Bezug auf das Auftreten steriler Mutanten bedeutet, oder ob sich der homothallische 90 %-Typ nur in einer geringeren Vitalität in

der Konkurrenz mit sterilen Mutanten von den heterothallischen Typen unterscheidet, ist allerdings nicht ohne weiteres zu entscheiden.

*c) Zusammenfassung.*

Durch Isolierung von Einzelzell- und Einzelsporkulturen aus homothallischen und heterothallischen Stämmen ist nachgewiesen worden, dass folgende Möglichkeiten der Mutation bestehen:

- 1) von homothallisch 90 % zu heterothallisch +, heterothallisch — und steril,
- 2) von heterothallisch + zu heterothallisch — und homothallisch 90 %, und
- 3) von heterothallisch — zu heterothallisch + und homothallisch 90 %.

Da stets die verschiedenen, möglichen Mutanten nebeneinander isoliert wurden, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden, ob sie in jedem Falle direkt, ohne Zwischenglied, aus dem ursprünglichen Stamme entstanden sind. Durch den Nachweis von Sektormutationen ist aber direkte Mutation für folgende Schritte sicher bekannt:

- a) von heterothallisch + zu homothallisch 90 %,
- b) von heterothallisch — zu homothallisch 90 %,
- c) von heterothallisch — zu heterothallisch +.

Für den Schritt von homothallisch 90 % zu steril ist direkte Mutation sehr wahrscheinlich, da aus heterothallischen Stämmen keine sterilen Mutanten bekannt sind. Von den Schritten von homothallisch 90 % zu den beiden heterothallischen Paarungstypen muss mindestens einer direkt verlaufen, da die sterilen Mutanten als Zwischenglieder nicht in Frage kommen. Wahrscheinlich gilt für beide Schritte direkte Mutation, da von beiden in entgegengesetzter Richtung direkte Mutation bekannt ist. Als Rückmutation zu der direkt verlaufenden Mutation von heterothallisch — zu heterothallisch + geht die Mutation von heterothallisch + zu heterothallisch — vermutlich ebenfalls ohne Zwischenglied vor sich.

Die verschiedenen Mutationsmöglichkeiten sind in Fig. 16 schematisch dargestellt. Mit breit ausgezogenen Pfeilen sind die als Sektormutanten direkt beobachteten Mutationen angegeben, während von den übrigen Schritten als wahrscheinlich anzunehmen ist, dass sie ebenfalls direkt verlaufen können. Die Mutationen zwi-

schen den Genen  $H^{90}$ ,  $h^+$  und  $h^-$  greifen direkt am Allellocus an. Ob der Uebergang zu Sterilität auf einer Mutation des Genes  $H^{90}$  beruht, oder ob die Mutation eines Modifikationsgenes an anderem Locus zu Sterilität führt, lässt sich nicht entscheiden.

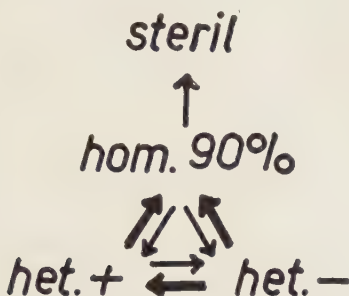


Fig. 16. Schematische Darstellung der Mutationsmöglichkeiten zwischen den verschiedenen Geschlechtstypen. Vgl. Text.

Die verschiedenen Möglichkeiten der Mutation und Rückmutation zwischen den drei Faktoren  $H^{90}$ ,  $h^+$  und  $h^-$  sind ein weiteres Anzeichen für multiple Allelie der drei Gene. Da weder Mutationen des homothallischen 40 %-Typs zu anderen Geschlechtstypen, noch Mutationen der übrigen Geschlechtstypen zum homothallischen 40 %-Typ angetroffen wurden, lassen sich aus den Untersuchungen über Mutationen keine neuen Anhaltspunkte für Allelie des zugrundeliegenden Faktors zu den drei übrigen Faktoren gewinnen. Es muss deshalb dahingestellt bleiben, ob das Allelieverhältnis nur für die Gene  $H^{90}$ ,  $h^+$  und  $h^-$  gilt, oder ob auch der Faktor für Homothallie des 40 %-Typs als Allel  $H^{40}$  zu der Serie multipler Allele zu rechnen ist. Doch ist das letztere keineswegs unwahrscheinlich.

## DISKUSSION.

Die Vererbung von Homothallie und Heterothallie kann verschieden bedingt sein. Im folgenden soll versucht werden, anhand neuerer Ergebnisse an Thallophyten einige der Möglichkeiten darzustellen, wobei die Begriffe »Homothallie« und »Heterothallie« weit gefasst werden sollen. Mit »Homothallie« sei ganz allgemein die Selbstfertilität isolierter Einzelstämme oder Individuen bezeichnet. Von Heterothallie soll in jedem Falle gesprochen werden, wo zwei intrasterile, aber interfertile Reaktionstypen auftreten, ob diese

nun durch echte Kopulationsfaktoren oder durch Sterilitätsfaktoren kontrolliert werden.

1) Die Homothallie der selbstfertilen Typen ist der direkte Ausdruck einer »allgemeinen bisexuellen Potenz«, welche ihre stoffliche Grundlage in einem hypothetischen »AG-Komplex« besitzt. (HARTMANN). In den heterothallischen Typen wird diese bisexuelle Entwicklungspotenz durch »Realisatoren« in die männliche oder weibliche Richtung gelenkt. — In dieser Weise hat GREIS (1941) Ergebnisse an dem Pyrenomyceten *Sordaria fimicola* zu erklären versucht. Es gelang ihm, durch Röntgenbestrahlung der homothallischen Ausgangskultur neben selbststerilen Heterokaryonten und sterilen Stämmen eine ganze Anzahl heterothallischer Mutanten männlichen und weiblichen Geschlechts zu erzeugen. Die Arbeit (die u. a. relative Sexualität nachweist und zeigt, dass tetrapolare Sexualität durch ein zusätzliches Paar von Sterilitätsfaktoren und nicht durch ein zweites Geschlechtsfaktorenpaar bedingt ist) versucht nachzuweisen, dass das Geschlechtsverhalten der heterothallischen Mutanten durch zwei nicht-allele Geschlechtsgene F und M bestimmt werde, dass aber derartige Geschlechtsrealisatoren dem homothallischen Ausgangsstamme fehlen. In zahlreichen Kreuzungen der verschiedensten männlichen und weiblichen Stämme wird zunächst gezeigt, dass die Alternative männlich-weiblich in der Reduktionsteilung im 1:1-Verhältnis getrennt wird, indem vier Sporen eines Ascus jeweils dem einen, vier dem anderen Geschlecht angehören. In einem einzigen Falle wurde, in der Reihenfolge der 8 Sporen, folgende Aufspaltung im Ascus gefunden:

- a), b): heterothallisch männlich
- c), d): heterothallisch weiblich
- e), f): homothallisch
- g), h): zunächst steril, nach längerer Kultur aber ebenfalls homothallisch.

Dieses Ergebnis wird als das Resultat eines Austausches zwischen zwei nicht-allelen Faktoren F und M gedeutet. Der Austausch hätte demnach im Vierstrangstadium stattgefunden, und als genetische Konstitution der acht Einzelsporkulturen wird angenommen (wobei mit »o« die inaktiven Allele von F und M bezeichnet seien): a), b): oM. — c), d): Fo. — e), f): FM. — g), h): oo.

Die homothallischen Einzelsporkulturen e) und f) würden also nach GREIS beide Geschlechtsfaktoren vereinigen, während den

zunächst sterilen Stämmen g) und h) beide Gene fehlten. Da auch sie nach einiger Zeit beiderlei Geschlechtsorgane auszubilden vermögen und demnach homothallisch sind, wird dies als Beweis für die Existenz sog. »primärer, realisatorenloser Monoecisten« angesehen. Diese Auffassung stützt sich auf die Vorstellungen von CORRENS und HARTMANN, dass dem Sexualgeschehen eine allgemeine bisexuelle Potenz der Zelle zugrundeliege, deren unbekannte Grundlage als »AG-Komplex« bezeichnet wird. Der AG-Komplex bildet danach das Substrat, an welchem die Geschlechtstaktoren oder »Realisatoren« angreifen, um die grundsätzlich bisexuellen Entwicklungspotenzen in die männliche oder weibliche Richtung zu steuern. Auf Grund dieser Vorstellungen lassen sich zweierlei Formen der Homothallie voraussehen: »primäre« Homothallie, welche allein auf der Auswirkung des AG-Komplexes beruht, und »sekundäre« Homothallie, welche mit dem AG-Komplex ein Realisatorsystem verbindet. Entsprechend betrachtet GREIS die Einzelsporokulturen e) und f) des Ausnahmesceus als sekundäre und die Stämme g) und h) als primäre Zwitter und nimmt an, dass der homothallische Ausgangsstamm von *S. fimicola* realisatorenlos und damit primär homothallisch sei.

Derart weittragende Schlüsse aus den Ergebnissen einer einzigen Ausnahmetetrade aus rund 370 analysierten Zygoten zu ziehen, erscheint zum mindesten etwas gewagt. Darauf hat auch HEITZ (1945) in einer kritischen Ueberprüfung der Resultate von GREIS hingewiesen, mit der Bemerkung, dass ein so niedriger Austauschwert, wie er für die Gene F und M gelten müsste, zunächst statistisch zu sichern sei.

Wir haben in eigenen Experimenten (1945, unveröffentlicht) versucht, die Resultate von GREIS zu verifizieren. Es wurden junge Plattenkulturen eines Einzelsporstammes von *S. fimicola*, welche eben mit der Anlage von Fruchtkörpern begannen, der Röntgenbestrahlung ausgesetzt. Die Strahlen wurden folgendermassen dosiert:

Serie I: 3000 r. Serie II: 6000 r. Serie III: 9000 r.

Es wurden isoliert und keimten:

|            |                   |
|------------|-------------------|
| Serie I:   | 262 Einzelsporen  |
| Serie II:  | 248 —             |
| Serie III: | 2070 —            |
| Total:     | 2580 Einzelsporen |

Von den 2580 Einzelsporkulturen zeigten in der ersten Sporenkultur auf Pferdemistagar noch 13 Stämme, nach Ueberimpfung auf frischen Agar noch ein Stamm keine Fruchtkörperbildung. Auch dieser letzte Stamm begann nach einiger Zeit mit der Anlage von Fruchtkörpern, d. h. die Bestrahlungsversuche hatten keine einzige Mutation von Homothallie zu Heterothallie ergeben. GREIS' Mutationsraten waren:

0,22 % bei 3200 r. — 0,43 % bei 3600 r. — 1,08 % bei 4000 r.

Nun spricht ein Nullergebnis in einem Versuche mit rund 2600 Kulturen noch nicht gegen die Möglichkeit einer geringen Mutationsrate. Bei Zugrundelegen einer statistischen Sicherheitsschwelle von  $P = 0,0027$  ist das Ergebnis noch mit Mutationsraten bis zu maximal ca. 0,25 % vereinbar. Doch sind Werte von 0,43 % und 1,08 %, wie sie GREIS bei Bestrahlung mit höheren Dosen festgestellt hat, in unseren Versuchen ausgeschlossen. — Die Arbeiten wurden auf Grund der negativen Ergebnisse nicht weitergeführt.

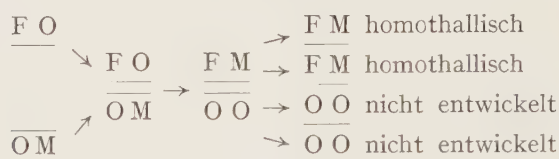
Zusammenfassend ist festzustellen, dass der Nachweis nichtalleler Realisatoren für die heterothallischen Mutanten und primärer, realisatorenloser Homothallie für den homothallischen Ausgangsstamm von *S. fimicola* auf Grund der Resultate von GREIS noch zu wenig gesichert erscheint. Umfangreichere Untersuchungen über den Austausch der Geschlechtsgene müssten dies erst bestätigen.

2) Die Homothallie kann auf Heterokaryosis beruhen, d. h. auf einer balancierten Kombination geschlechtsverschiedener Kerne in mehrkernigen Zellen, während sich Typen mit einkernigen Zellen als heterothallisch erweisen. — DODGE (1927, 1928) hat diesen Fall bei *Neurospora tetrasperma* realisiert gefunden. Dieser Pyrenomycet bildet, wie der Name sagt, normalerweise vier Sporen im Ascus. Die Einzelsporkulturen sind selbstfertil und sind demnach als homothallisch zu bezeichnen. Doch kommt auch vor, dass beispielsweise fünf Sporen gefunden werden, von welchen drei normale Grösse zeigen, während zwei bedeutend kleiner sind. Die Einzelsporkulturen der grösseren Sporen sind normal homothallisch; diejenigen der kleineren Sporen bleiben in der isolierten Kultur steril, erweisen sich aber in bestimmten Paarkombinationen als heterothallisch. Die zytologische Untersuchung ergibt, dass zunächst, wie in anderen Ascomyceten, im jungen Ascus acht Kerne gebildet werden. Diese werden zu je zwei Kernen pro Spore auf die vier Sporen eines normalen Ascus verteilt. Dies gilt auch für die grösseren Sporen abwei-

chender Asci, wogegen die kleineren Sporen nur einen Kern erhalten. Fügen wir hinzu, dass DODGE ebenso aus den (teilweise einkernigen) Konidien homothallischer Mycelien neben homothallischen auch heterothallische Mycelien isolieren konnte, so ist als erwiesen anzusehen, dass die Homothallie dieser Art durch die Kombination haploider Kerne entgegengesetzten heterothallischen Reaktionstyps im selben Mycel zustandekommt, während die heterothallischen Mycelien nur Kerne gleichen Reaktionstyps enthalten. Die homothallischen Mycelien sind demnach Heterokaryonten (Miktohaplonten, Mischmycelien).

3) Die Homothallie der selbstfertilen Typen kann auf der Kombination entgegengesetzter Geschlechtsgene im selben Chromosomensatz beruhen — derselben Geschlechtsgene, die in den heterothallischen Formen getrennt den Reaktionstyp bestimmen. — Bei Algen hat MOEWUS diese Vererbungsweise für homothallische und heterothallische Rassen von *Polytoma Pascheri* (1935 a), *Protosiphon botryoides* (1935 c) und *Chlamydomonas eugametos* (1938), sowie für homothallische und heterothallische Arten der Gattungen *Polytoma* (1935 a) und *Chlamydomonas* (1936, 1938) nachgewiesen. Auf Grund der Kreuzung verschiedener Rassen und Arten des homothallischen und heterothallischen Typs wurde gezeigt, dass die beiden Geschlechtsgene F und M, welche einzeln für die Bestimmung des Geschlechts in den heterothallischen Formen verantwortlich sind, in den homothallischen Formen im selben Chromosome kombiniert vorliegen. So wird beispielsweise für eine homothallische Rasse von *Polytoma Pascheri* die genetische Konstitution FM angenommen, wobei die beiden Gene F und M als nichtallele Faktoren im selben Chromosome liegen sollen. In der heterothallischen Rasse zeigt demnach das eine Geschlecht (+) die Konstitution Fo, das entgegengesetzte Geschlecht (—) die Konstitution oM, d. h. F und M sind auf die homologen Chromosomen eines Geschlechtschromosomenpaares verteilt und je mit einem inaktiven Allel o des entgegengesetzten Genes kombiniert. Die Kreuzung homothallisch  $\times$  heterothallisch + liefert in den Keimzelltetraden ausschliesslich 2:2-Aufspaltungen in die beiden Elterntypen. Dasselbe gilt für die Kreuzung homothallisch  $\times$  heterothallisch —. Dies würde — im Einklang mit den Ergebnissen an *Schizosaccharomyces Pombe* — die Aufstellung einer Allelserie dreier Faktoren erlauben, von welchen einer für Homothallie verantwortlich ist, während die beiden andern das Geschlecht in der heterothallischen Rasse bestimmen. Tatsächlich spaltet auch die Kreuzung

heterothallisch +  $\times$  heterothallisch — im 2:2-Verhältnis auf. In 7,9 % der Tetraden dieser Kreuzung werden aber nur zwei lebensfähige Keimzellen gebildet, welche zu homothallischen Stämmen auskeimen. Dies wird durch Austausch zwischen den Heterothalliegenen F und M im Zweistrangstadium der Meiose erklärt, weshalb die beiden Faktoren nicht allel sein können:



In Übereinstimmung mit der genetischen Konstitution dieser homothallischen Ausnahmen wird auch für die homothallische Ausgangsrasse von *P. Pascheri* die Konstitution FM angenommen. Dies lässt sich tatsächlich durch den Nachweis von Austausch zwischen den Faktoren F und M in Kreuzungen der homothallischen und heterothallischen Rasse von *P. Pascheri* mit einer homothallischen Art stärkerer Geschlechtsvalenz, *P. uvella*, bestätigen. — In durchaus entsprechender Weise liess sich das Vorkommen homothallischer Rassen und Arten in den Gattungen *Protosiphon* und *Chlamydomonas* auf die Kombination bzw. Trennung zweier nicht-alleler Geschlechtstfaktoren F und M derselben Koppelungsgruppe zurückführen.

Bei Pilzen hat HÜTTIG (1935) über ähnliche Ergebnisse berichtet. Es gelang ihm, bei dem Pyrenomyceten *Glomerella lycopersici* nebeneinander einen homothallischen und einen heterothallisch männlichen Typ zu isolieren. Während der homothallische Typ beiderlei Geschlechtsorgane ausbildet, zeigt der rein männliche Typ nur Antheridien. Die Kreuzung der beiden Typen gibt an der Berührungszone eine dichte Reaktionslinie von Perithezien. Von aus der Reaktionslinie isolierten Einzelspormycelien gehören 50 % dem homothallischen und 50 % dem heterothallischen Typ an, d. h. es wird eine monofaktorielle 1:1-Aufspaltung gefunden. Dass aber hieraus nicht direkt auf ein Allelenpaar für Homothallie und Heterothallie geschlossen werden darf, zeigen die weiteren Ergebnisse dieser Untersuchung. Durch Kältebehandlung wurde aus dem homothallischen Ausgangsstamme mutativ ein neuer männlicher Stamm erhalten. Die Anwendung von Temperatursprüngen und Röntgenstrahlen führte zu neuen homothallischen Mutanten. Die Kreuzung der verschiedenen homothallischen und heterothallischen Stämme ergab

im wesentlichen stets wieder 1:1-Aufspaltungen, daneben aber in einzelnen der Versuche in kleinerem Prozentsatze auch neue homothallische und männliche Formen, deren Entstehung durch Faktorenaustausch erklärt wurde. Die Ausgangsstämme, Mutanten und Austauschtypen (im ganzen acht Stämme) liessen sich in eine Reihe steigender sexueller Intensität von schwachen zu starken Männchen und von neutralen zu stark weiblich reagierenden Zwittern einordnen. Ihre gegenseitige, paarweise Kreuzung lieferte Aufspaltungen, welche HÜTTIG durch die Annahme zweier nicht-alleler Geschlechtstfaktoren  $\alpha$  und  $\gamma$  innerhalb derselben Koppelungsgruppe und ihren teilweisen Austausch während der Meiose zu erklären sucht. Sie sollen in den homothallischen Typen im selben Chromosome kombiniert wirken, während in den männlichen Typen an Stelle des weiblich bestimmenden Faktors  $\gamma$  ein inaktives Allel vermutet wird. Unterschiedliche Geschlechtsvalenz zweier Allele des  $\alpha$ -Locus und ein zusätzliches Allelenpaar modifizierender Gene, welche kreuzungsfördernd bzw. kreuzungshemmend wirken, komplizieren das Bild. — Die sehr kurz gehaltene Arbeit HÜTTIGS lässt vor allem tetradanalytische Untersuchungen vermissen, welche zur weiteren Klärung der unübersichtlichen Verhältnisse bei *G. lycopersici* wesentliches beitragen könnten.

4) Ein Allelenpaar ist für die Alternative Homothallie — Heterothallie, ein zweites für die Geschlechtsbestimmung im Rahmen der Heterothallie verantwortlich. — Eine derartige Vererbungsweise ergab sich in der Kreuzung einer deutlich heterothallischen Rasse von *Saccharomyces cerevisiae* (»Yeast Foam«) mit der homothallischen Art *Saccharomyces Chevalieri*, wie WINGE und ROBERTS (1949, im Druck) zeigen konnten. Ein Gen D bewirkt obligatorischen, frühzeitigen Uebergang der isolierten Einzelsporkultur in die vegetative Diplophase (sog. »diploidization«). Es charakterisiert die homothallische Art *S. chevalieri*. Mit dem Allel d ist im allgemeinen das Fehlen homothallischer Kopulationen innerhalb der haploiden Einzelsporkulturen verbunden. Dafür lässt es die allelen Faktoren A und a zur Geltung kommen, welche mit d kombiniert den heterothallischen Paarungstyp bestimmen, bei der Kombination mit D aber nicht zur Auswirkung kommen können. Das Gen D darf demnach als eigentlicher Faktor für Homothallie aufgefasst werden, während das Allel d grundsätzlich für Heterothallie verantwortlich ist, wobei aber die Bestimmung des Paarungstyps dem Allelenpaare A und a übertragen ist. — Die Kreuzung von *S. Chevalieri* (homothallisch)

× *S. cerevisiae* (heterothallisch) führt zu einem Hybriden der Konstitution DdAa. Die Reduktionsteilung liefert 2:2-Aufspaltungen in homothallische, frühzeitig in die vegetative Diplophase übergehende Stämme und heterothallische, in der Haplophase verbleibende Stämme. Die folgenden Aufspaltungen sind möglich und wurden nachgewiesen:

|          |    |                                   |
|----------|----|-----------------------------------|
| 3 Asci:  | DA | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | DA | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | da | heterothallisch a, bleibt haploid |
|          | da | heterothallisch a, bleibt haploid |
| 4 Asci:  | Da | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | Da | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | dA | heterothallisch A, bleibt haploid |
|          | dA | heterothallisch A, bleibt haploid |
| 23 Asci: | DA | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | Da | homothallisch, frühzeitig diploid |
|          | dA | heterothallisch A, bleibt haploid |
|          | da | heterothallisch a, bleibt haploid |

Wie ersichtlich, sind nicht nur die zwei heterothallischen Paarungstypen der genetischen Konstitution dA und da, sondern auch die beiden homothallischen Typen der Konstitution DA und Da realisiert. Sie unterscheiden sich genotypisch, nicht aber phänotypisch, da die Paarungsfaktoren A und a nicht zur Auswirkung kommen können.

5) Es besteht eine Allelserie dreier Faktoren, von welchen einer für Homothallie verantwortlich ist, während die beiden andern die Geschlechtsbestimmung innerhalb der Heterothallie steuern. — In dieser Weise sind die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit an *Schizosaccharomyces Pombe* gedeutet worden, was den homothallischen 90 %-Typ und die beiden heterothallischen Paarungstypen betrifft. Wenn auch relativ geringe Versuchszahlen zur Verfügung stehen — dies hängt mit der verhältnismässig zeitraubenden Isolationstechnik bei Hefen zusammen — so stehen doch die klaren 2:2-Aufspaltungen in den Kreuzungen der drei Typen, die übereinstimmenden Reduktionswerte, wie auch die Mutabilität der zugrundeliegenden Faktoren, welche offenbar jeden der sechs denkbaren Mutationsschritte zwischen den drei Genen ermöglicht, mit der Auffassung gegenseitiger Allelie der drei Faktoren in bestem Einklang. — Dagegen fällt der

homothallische 40 %-Typ durch verschiedene Abweichungen auf, die ein Allelieverhältnis des zugrundeliegenden Faktors mit den drei übrigen Genen fraglich erscheinen lassen. Hierher gehört die Tendenz, mit dem heterothallischen Paarungstyp — reichlicher zu kopulieren als mit dem entgegengesetzten Paarungstyp. Hierher gehört weiter die Tatsache ausschliesslicher Praereduktion in den Kreuzungen mit den beiden heterothallischen Paarungstypen, welche durch crossing-over-Unterdrückung erklärt wurde. Schliesslich weicht der 40 %-Typ auch in seiner genetischen Stabilität von den übrigen Typen ab, da er sowohl Mutationen nach den andern drei Geschlechtstypen vermissen lässt wie auch selbst in keinem der andern Typen als Mutation auftritt. Immerhin genügen diese Tatsachen keineswegs, um dem Homothalliefaktor des 40 %-Typs die Möglichkeit eines Allelverhältnisses zu den übrigen Faktoren abzusprechen.

Diese Zusammenstellung neuerer Literatur soll zeigen, dass verschiedene Möglichkeiten der Vererbung von Homothallie und Heterothallie bei Thallophyten nachgewiesen worden sind. Sie sind prinzipiell auch für die Verhältnisse bei den Hefen denkbar. Die Arbeit von WINGE und ROBERTS und die vorliegende Untersuchung haben die genetische Grundlage des Vorkommens von Homothallie und Heterothallie bei Hefen bereits für zwei Fälle klarlegen können. Es ist zu wünschen, dass derartige Untersuchungen auch auf weitere Hefeformen ausgedehnt werden, da hier alle Uebergänge zwischen den beiden Verhaltensweisen vorzukommen scheinen.

Besondere Bedeutung ist bei Beurteilung der labilen Sexualitätsverhältnisse der Saccharomyceten dem Mutationsproblem beizumessen. Die Untersuchungen an *Schizosaccharomyces Pombe* haben gezeigt, dass auf der Grundlage einer einfachen genetischen Situation Mutationen und Rückmutationen sowohl zwischen den beiden Zuständen der Homothallie und Heterothallie, wie auch zwischen den beiden heterothallischen Paarungstypen möglich sind. Eine ähnliche Labilität der Geschlechtsverhältnisse ist aus mannigfachen Erfahrungen vor allem an Pilzen bekannt. »Illegitime« Kopulationen bei Heterothallie des bipolaren oder tetrapolaren Typs wurden bei Hymenomyceten von BRUNSWICK (1924), VANDENDRIES (1925, 1927), NEWTON (1926 a), KNIEP (1929) u. a. festgestellt und von BRUNSWICK »Durchbrechungskopulationen« genannt. Sie liessen sich in vielen Fällen auf mutative Aenderungen in Geschlechts- oder Sterilitätsfaktoren zurückführen. Bei Ascomyceten haben HÜTTIG (1935) und GREIS (1941) Mutationen der Geschlechtsfaktoren fest-

gestellt, welche die Umwandlung homothallischer in heterothallische Stämme bewirkten (s. oben). MOEWUS (1940 c) hat über Mutationen der Sexualgene bei der Alge *Chlamydomonas* berichtet. Bei Lebermoosen glaubt LORBEER (1936, 1938) in Röntgenbestrahlungsversuchen die Mutation eines weiblichen Realisators in einen männlichen nachgewiesen zu haben, während KNAPP und HOFMANN (1940) die Geschlechtsumkehr von weiblich nach männlich durch Verlust eines bestimmten Stückes des X-Chromosoms erklären.

Es ist durchaus wahrscheinlich, dass auch die Labilität der Geschlechtsverhältnisse bei den Hefen sich auf Grund von Mutationen in Sexualgenen erklären lässt. In der vorliegenden Untersuchung ist dieser Nachweis für *Schizosaccharomyces Pombe* gelungen.

### SUMMARY

- 1) The isolation of single cells and single ascospores from a culture of *Schizosaccharomyces Pombe*, str. *liquefaciens*, and the examination of the ascospore formation ability of the isolated strains in single cultures and mass combinations show that the culture received from Delft (Holland) is a mixture of two homothallic strains of different fertilities, two mating types of a heterothallic strain, and a sterile strain. The ascospore formation of different strains after cultivating for five days on malt agar is as follows:
  - a) Homothallic »90 %-type«:  $86,7 \pm 0,5$  % spores
  - b) Homothallic »40 %-type«:  $38,1 \pm 0,7$  % spores
  - c) Heterothallic mating type +: 0,0 to ca. 3 % spores
  - d) Heterothallic mating type -: 0,0 to ca. 3 % spores
  - e) Sterile type: 0,0 % spores

The combination of the two heterothallic mating types gives about 30–40 % spores.

The copulation process in the two homothallic types differs from that in the combination of the two heterothallic mating types in that in the former normally the daughter cells of a cell division copulate with each other (sistercell-copulation), while in the latter copulation always takes place between non-sistercells.

- 2) Crossing in pairs of the two homothallic and the two heterothallic types in all possible combinations (except the crossing between the two homothallic types that seems to be impossible) results in 2:2-segregations of the two parental types in the four-spored

asci. This and the agreement of the reduction values<sup>1)</sup> calculated from the crossings

- a) heterothallic  $+$   $\times$  heterothallic  $-$  (reduction value = 40,0 %)
  - b) homothallic 90 %  $\times$  heterothallic  $+$  (reduction value = 37,1 %)
  - c) homothallic 90 %  $\times$  heterothallic  $-$  (reduction value = 34,8 %)

indicate multiple allelism between a factor for homothallism of the 90 %-type ( $H^{90}$ ), a factor for heterothallism of the mating type  $+$  ( $h^+$ ) and a factor for heterothallism of the mating type  $-$  ( $h^-$ ).

The homothallic 40 %-type behaves differently in that crossings with the two heterothallic mating types show complete prereduction of the participating genes (reduction value in each case = 0,0 %). This can be explained by the suppression of crossing over in the 40 %-type, but from this, it is not possible to decide whether the factor for homothallism of the 40 %-type is an allele  $H^{40}$  belonging to the series of alleles  $H^{90}$ - $h^+$ - $h^-$  or simply lies at another locus of the same chromosome.

- 3) Between the alleles  $H^{90}$ ,  $h^+$  and  $h^-$  all possible steps of mutation seem to take place. The following steps of mutation are demonstrated with certainty as spontaneous sector mutations in cultures of hanging droplets:

- a) heterothallic  $+$   $\rightarrow$  homothallic 90 %
- b) heterothallic  $- \rightarrow$  homothallic 90 %
- c) heterothallic  $- \rightarrow$  heterothallic  $+$ .

In addition the mutation from homothallism of the 90 %-type to sterility appears rather often.

These mutations explain the observation that after some months homothallic strains of the 90 %-type regularly decrease in fertility, and that heterothallic strains even in single cultures are often able to sporulate (up to ca. 3 %).

---

<sup>1)</sup> Reduction value = one-half the percentage of second division segregations (LUDWIG 1937, 1938).

## LITERATURVERZEICHNIS

- BARKER, B. T. P. 1901: A conjugating „Yeast“. — Philos. Transactions of the Royal Soc. of London **194**, 467.
- BEIJERINCK, M. W. 1894: *Schizosaccharomyces octosporus*, eine achtsporige Alkoholhefe. — Cbl. Bakt. Parasitenkde **16**, 49.  
1897: Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe. — Cbl. Bakt. Parasitenkde II. Abt. **3**, 449.  
— 1898: Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen, wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist. — Cbl. Bakt. Parasitenkde II. Abt. **4**, 657.
- BLAKESLEE, A. F. 1904: Sexual reproduction in the Mucorineae. — Proc. Am. Acad. **40**, 205.
- BRUNSWIK, H. 1924: Neuere Untersuchungen über die Sexualitätsverhältnisse bei den Pilzen. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **24**, 214.  
1926: Die Reduktionsteilung bei den Basidiomyceten. — Z. f. Bot. **18**, 481.
- BURGEFF, H. 1928: Variabilität, Vererbung und Mutation bei *Phycomyces Blakesleanus*. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **49**, 26.
- DITLEVSEN, E. 1944: A case of simple segregation in *Saccharomyces italicus*. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **24**, 31.
- DODGE, B. O. 1927: Nuclear phenomena associated with heterothallism and homothallism in the Ascomycete *Neurospora*. — J. Agr. Research **35**, 289.  
— 1928: Unisexual conidia from bisexual mycelia. — Mycologia **20**, 226.  
— 1929: The nature of giant spores and the segregation of sex factors in *Neurospora*. — Mycologia **21**, 222.  
— 1940: Second-division segregation and crossing-over in the fungi. — Bull. Torr. Bot. Club **67**, 467.
- FUNKE, G. L. 1924: Die Isolierung von Basidiosporen mit dem Mikromanipulator. — Z. f. Bot. **16**, 619.
- GREIS, H. 1941: Mutations- und Isolationsversuche zur Beeinflussung des Geschlechtes von *Sordaria fimicola* (ROB.). (Ein Beitrag zur Frage nach der Stabilität und Labilität der Sexualreaktionen bei Monöcisten und Diöcisten). — Z. f. Bot. **37**, 1.
- GUILLIERMOND, A. 1901: Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. — Ctes rend. Acad. Sci. **132**, 1252.  
— 1903: Remarques sur la copulation du *Schizosaccharomyces Mellacei*. — Ann. Soc. Bot. de Lyon 1903.  
— 1905: Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les levures. — Rev. gén. Bot. **17**, 337.  
— 1920: The Yeasts. — Uebers. v. TANNER, F. W. New York.  
— 1931: Recherches sur l'homothallisme chez les levures. — Rev. gén. Bot. **43**, 1.

- GUILLIERMOND, A., 1940: Sexuality, developmental cycle and phylogeny of yeasts. — Bot. Review **6**, 1.
- HANNA, W. F. 1925: The problem of sex in *Coprinus lagopus*. — Ann. Bot. **39**, 431.
- HANSEN, E. CHR. 1891: Undersøgelser over Alkoholgjaersvampenes Fysiologi og Morfologi. VIII. — Medd. fra Carlsberg Lab. **3**, 53.
- HARTMANN, M. 1943: Die Sexualität. — Jena.
- HEITZ, E. 1945: Kritische Bemerkung betreffend den Nachweis von Realisatorgenen bei *Sordaria fimicola* (ROB.). — Vierteljrsschr. Nat. forsch. Ges. Zürich **90**, 47.
- HOFFMEISTER, C. 1900: Zum Nachweis des Zellkerns bei *Saccharomyces*. — Sitzungsber. d. deutsch. naturw.-med. Ver. Lotos, **5**.
- HÜTTIG, W. 1931: Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Keimung und Geschlechtsverteilung bei Brandpilzen. — Z. f. Bot. **24**, 529.
- 1935: Die Sexualität bei *Glomerella lycopersici* und ihre Vererbung. — Biol. Zbl. **55**, 74.
- KNAPP, E. 1936: Zur Genetik von *Sphaerocarpus*. (Tetradenanalytische Untersuchungen). — Ber. Deutsch. Bot. Ges. **54**, (58).
- 1937: Crossing-over und Chromosomenreduktion. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **73**, 409.
- und HOFFMANN, I. 1939: Geschlechtsumwandlung bei *Sphaerocarpus* durch Verlust eines Stückes des X-Chromosoms. — Chromosoma **1**, 130.
- KNIEP, H. 1928: Die Sexualität der niederen Pflanzen. Jena.
- 1929: Vererbungserscheinungen bei Pilzen. — Bibliogr. Genet. **5**, 371.
- KRUIS, K. und ŠATAVA, J. 1918: O vývoji a klíčení spór jakož i sexualitě kvasinek. — V Praze.
- LINDEGREN, C. C. 1932: The genetics of *Neurospora*. — II. Segregation of the sex factors in the asci of *N. crassa*, *N. sitophila*, and *N. tetrasperma*. — Bull. Torr. Bot. Club **59**, 119.
- 1933: The genetics of *Neurospora*. — III. Pure bred stocks and crossing-over in *N. crassa*. — Bull. Torr. Bot. Club **60**, 133.
- 1936: A six-point map of the sex-chromosome of *Neurospora crassa*. — Genetics **32**, 243.
- 1945 a: Mendelian and cytoplasmic inheritance in yeasts. — Ann. Missouri Bot. Garden **32**, 107.
- 1945 b: Yeast genetics: Life cycles, cytology, hybridization, vitamin synthesis, and adaptive enzymes. — Bact. Rev. **9**, 111.
- and LINDEGREN, G. 1937: Non-random crossing-over in *Neurospora*. — J. Heredity **28**, 105.
- 1939: Non-random crossing-over in the second chromosome of *Neurospora crassa*. — Genetics **24**, 1.
- 1943 a: A new method for hybridizing yeast. — Proc. Nat. Acad. Sci., U. S., **29**, 306.
- 1943 b: Segregation, mutation and copulation in *Saccharomyces cerevisiae*. — Ann. Missouri Bot. Garden **30**, 453.
- 1944 a: Sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. — Bot. Gaz. **105**, 304.

- LINDEGREN, C. C., 1944 b: Instability of the mating type alleles in *Saccharomyces*. — Ann. Missouri Bot. Garden **31**, 203.
- 1947: The cytogene theory. — Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology **11**, 115.
- , SPIEGELMAN, S. and LINDEGREN, G.: Mendelian inheritance of adaptive enzymes in yeast. — Proc. Nat. Acad. Sci.; U. S., **30**, 346.
- LINDNER, P. 1893: *Schizosaccharomyces Pombe* n. sp., ein neuer Gärungserreger. — Woch. f. Brau. **10**, 1298.
- LORBEER, G. 1936: Die Umwandlung eines haploiden, genotypisch weiblichen Gametophyten von *Sphaerocarpus Donnellii* in einen männlichen mit Hilfe von Röntgenstrahlen. — Planta **25**, 70.
- 1938: Ueber das Vorkommen von drei verschiedenen Geschlechtsrealisatoren bei den Lebermoosen. — Planta **27**, 708.
- LUDWIG, W. 1937: Ueber die Häufigkeit von Post- und Praereduktion (Grundsätzliches zur Teträdenanalyse). — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **73**, 332.
- 1938: Faktorenkoppelung und Faktorenaustausch bei normalem und aberrantem Chromosomenbestand. — Leipzig.
- MARCHAND, H. 1913: La conjugaison des spores chez les levures. — Rev. gén. Bot. **25**, 205.
- MOEWUS, F. 1933: Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Chlorophyceen. — Arch. f. Protistenkunde **80**, 469.
- 1935 a: Ueber die Vererbung des Geschlechts bei *Polytoma Pascheri* und bei *Polytoma uvella*. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **69**, 374.
- 1935 b: Ueber den Einfluss äusserer Faktoren auf die Geschlechtsbestimmung bei *Protosiphon*. — Biol. Zbl. **55**, 293.
- 1935 c: Die Vererbung des Geschlechts bei verschiedenen Rassen von *Protosiphon botryoides*. — Arch. f. Protistenkunde **86**, 1.
- 1936: Faktorenaustausch, insbesondere der Realisatoren bei *Chlamydomonas*-Kreuzungen — Ber. Deutsch. Bot. Ges. **54**, (45).
- 1938: Vererbung des Geschlechts bei *Chlamydomonas eugametos* und verwandten Arten. — Biol. Zbl. **58**, 516.
- 1939: Untersuchungen über die relative Sexualität von Algen. — Biol. Zbl. **59**, 40.
- 1940 a: Ueber die Sexualität von *Botrydium granulatum*. — Biol. Zbl. **60**, 484.
- 1940 b: Die Analyse von 42 erblichen Eigenschaften der *Chlamydomonas eugametos* - Gruppe. I.—III. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **78**, 418.
- 1940 c: Ueber Mutationen der Sexualgene bei *Chlamydomonas*. — Biol. Zbl. **60**, 597.
- 1941: Zur Sexualität der niederen Organismen. I. Flagellaten und Algen. — Ergebn. d. Biol. **18**, 287.
- 1948: Ueber die Erbllichkeit des Kopulationsverhaltens bei *Chlamydomonas*. — Zeitschr. f. Naturforschg. **3 b**, 279.
- NEWTON, D. E. 1926 a: The bisexuality of individual strains of *Coprinus rostrupianus*. — Ann. Bot. **40**, 105.
- 1926 b: The distribution of spores of diverse sex on the hymenium of *Coprinus lagopus*. — Ann. Bot. **40**, 891.

- NICKERSON, W. J. and THIMANN, K. V. 1941: The chemical control of conjugation in *Zygosaccharomyces*. — Amer. J. Bot. **28**, 617.
- 1943: The chemical control of conjugation in *Zygosaccharomyces*. II. — Amer. J. Bot. **30**, 94.
- OLENOV, J. M. 1934: Ueber die Bildung neuer Rassen bei *Zygosaccharomyces mandshuricus* SAITO unter dem Einfluss der Radiumemanation. — Zbl. f. Bakt. Parasitenkde II. Abt. **92**, 163.
- OSTERWALDER, A. 1924: *Schizosaccharomyces liquefaciens* n. sp., eine gegen freie schweflige Säure widerstandsfähige Gärhefe. — Mitt. a. d. Gebiete d. Lebensmittelunters. u. Hygiene, **15**, 5.
- SANSOME, E. R. 1946: Recent genetical experiments with yeasts. — Nature **157**, 52.
- SATAVA, J. 1918: O redukovaných formách kvasinek. — V Praze.
- 1934: Les formes sexuelles et asexuelles des levures et leur pouvoir fermentatif. — III<sup>e</sup> Congrès international technique et chimique des industries agricoles. Paris.
- SCHJØNNING, H. 1895: En ny og ejendommelig Ascusdannelse hos en Gærsvamp. — Medd. fra Carlsberg Lab. **4**, 77.
- SKOVSTED, A. 1943: Successive mutations in *Nadsonia Richteri* KOSTKA. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **23**, 409.
- 1948: Induced camphor mutations in yeast. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **24**, 249.
- SPIEGELMAN, S., LINDEGREN, C. C. and LINDEGREN, G. 1945: Maintenance and increase of a genetic character by a substrate - cytoplasmic interaction in the absence of the specific gene. — Proc. Nat. Acad. Sci., U. S., **31**, 95.
- STELLING-DEKKER, N. M. 1931: Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures“. I. Teil: Die sporogenen Hefen. — Amsterdam.
- VANDENDRIES, R., 1925 a: L'hétéro-homothallisme dans le genre *Coprinus*. — Bull. Soc. roy. Bot. Belg. **57**, 8 S.
- 1925 b: Les mutations sexuelles des Basidiomycètes. — Bull. Soc. roy. Bot. Belg., **58**, 10 S.
- 1927 a: Nouvelles recherches expérimentales sur le comportement sexuel de *Coprinus micaceus*. — Mém. Acad. Belg., Cl. de Sci., 2. Sér., **9**, 1.
- 1927 b: Les mutations sexuelles, l'hétéro-homothallisme et la stérilité entre races géographiques de *Coprinus micaceus*. — Mém. Acad. Belg., 2. Sér., **9**, 50 S.
- WILCOX, M. S., 1928: The sexuality and arrangement of the spores in the ascus of *Neurospora sithophila*. — Mycologia **20**, 3.
- WINGE, Ø., 1935: On haplophase and diplophase in some Saccharomycetes. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. Physiol., **21**, 77.
- 1944: On segregation and mutation in yeast. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **24**, 79.
- 1947: The segregation in the ascus of *Saccharomycodes Ludwigii*. — Ctes rend. Lab. Carlsberg **24**, Sér. physiol., 223.
- and LAUSTSEN, O., 1937: On two types of spore germination, and on genetic segregations in *Saccharomyces*, demonstrated through single-spore cultures. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **22**, 99.

- WINGE, Ø., 1938: Artificial species hybridization in yeast. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **22**, 235.
- 1939 a: On 14 new yeast types, produced by hybridization. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **22**, 337.
- 1939 b: *Saccharomyces Ludwigii* HANSEN, a balanced heterozygote. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **22**, 357.
- and ROBERTS, C., 1948: Inheritance of enzymatic characters in yeasts, and the phenomenon of long-term adaptation. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **24**, 263.
- 1949: A gene for diploidization in yeasts. — Ctes rend. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **24**, 341-346.
- WÜLKER, H., 1935: Untersuchungen über Tetradenaufspaltung bei *Neurospora sitophila*. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **69**, 210.
- ZICKLER, H., 1934: Genetische Untersuchungen an einem heterothallischen Ascomyceten (*Bombardia lunata* nov. spec.). — Planta **22**, 573.
- 1937: Die Vererbung des Geschlechts bei dem Ascomyceten *Bombardia lunata* ZICKL. — Z. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. **73**, 403.
-



## VERZEICHNIS DER TAFELN

### TAFELN I UND II

Die verschiedenen Geschlechtstypen bei 600-facher Vergrößerung, nach viertägiger Sporenkultur auf Malzagar. Mikrophotographien frischer, wässriger Zellsuspensionen, welchen zur Tönung des Hintergrundes etwas Lichtgrün zugesetzt worden ist.

- Taf. I Abb. a Homothallischer Stamm des 90 $\frac{0}{0}$ -Typs (Z 27).  
Abb. b Heterothallischer Stamm des Paarungstyps — (19a).  
Taf. II Abb. a Heterothallischer Stamm des Paarungstyps + (19b).  
Abb. b Kombination zweier heterothallischer Stämme entgegengesetzten Paarungstyps (19a: Paarungstyp —, 19b: Paarungstyp +).

### TAFELN III UND IV

2:2-Aufspaltung in die beiden Elterntypen in einem Ascus aus der Kreuzung eines homothallischen Stammes des 90 $\frac{0}{0}$ -Typs (Z 27) mit einem heterothallischen Stamme des Paarungstyps + (19b). Mikrophotographien der vier Einzelsporstämme bei 90-facher Vergrößerung, die Kulturen im hängenden Tröpfchen 7 Tage nach der Isolation zeigend. — Vgl. Tab. 14.

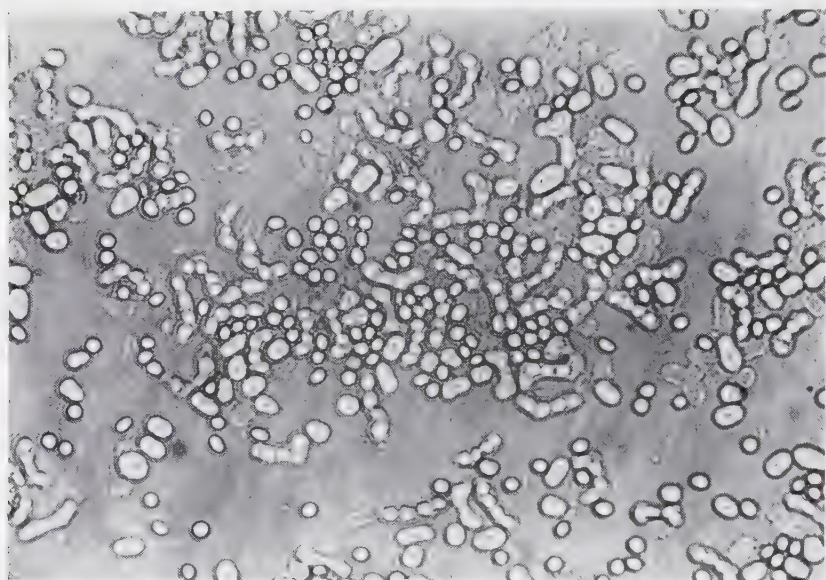
- Taf. III Abb. a Homothallischer Stamm des 90 $\frac{0}{0}$ -Typs ([Z 27  $\times$  19b] 1a).  
Abb. b Heterothallischer Stamm des Paarungstyps + ([Z 27  $\times$  19b] 1b).  
Taf. IV Abb. a Heterothallischer Stamm des Paarungstyps + ([Z 27  $\times$  19b] 1c).  
Abb. b Homothallischer Stamm des 90 $\frac{0}{0}$ -Typs ([Z 27  $\times$  19b] 1d).

### TAFEL V

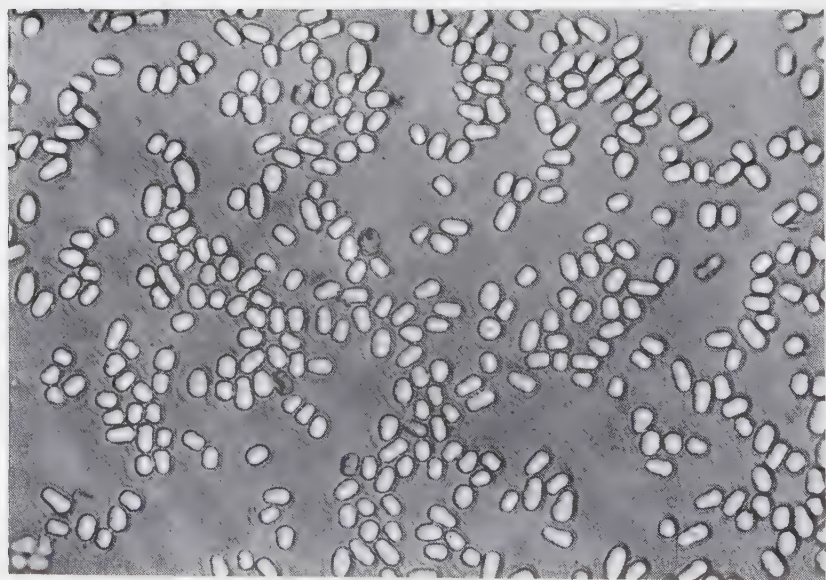
Sektormutationen in heterothallischen Stämmen. Mikrophotographien von Einzelsporstämmen bei 90-facher Vergrößerung, die Kulturen im hängenden Tröpfchen 7 Tage nach der Isolation zeigend.

- Abb. a Kultur eines heterothallischen Stammes des Paarungstyps — (7c/5a/8b, vgl. Tab. 30). Ausbildung eines homothallischen Sektors des 90 $\frac{0}{0}$ -Typs innerhalb der frisch isolierten Einzelsporkultur im hängenden Tröpfchen.  
Abb. b Kultur eines heterothallischen Stammes des Paarungstyps — (7c/5a/10a, vgl. Tab. 30 und Fig. 15). Ausbildung eines heterothallischen Sektors des Paarungstyps + innerhalb der frisch isolierten Kultur im hängenden Tröpfchen, Ausgangsstamm und Mutante durch eine Reaktionslinie getrennt.
-

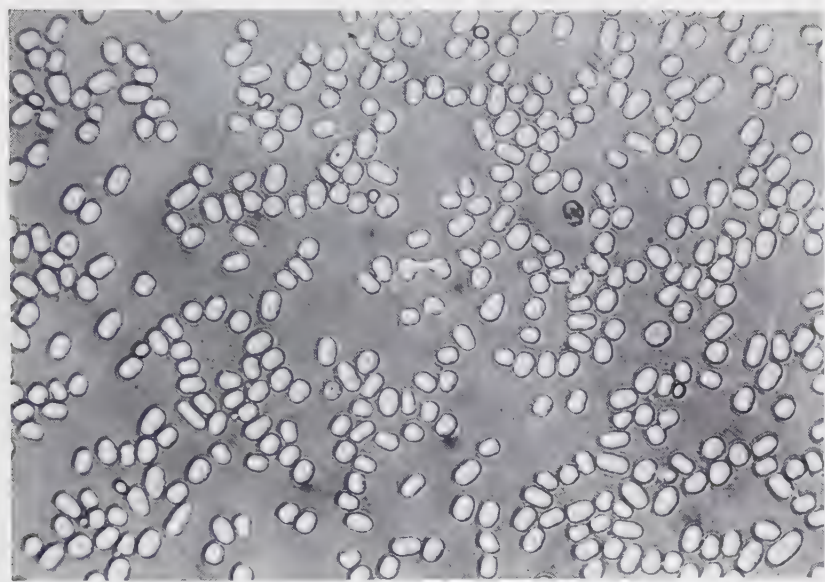
# TAFELN



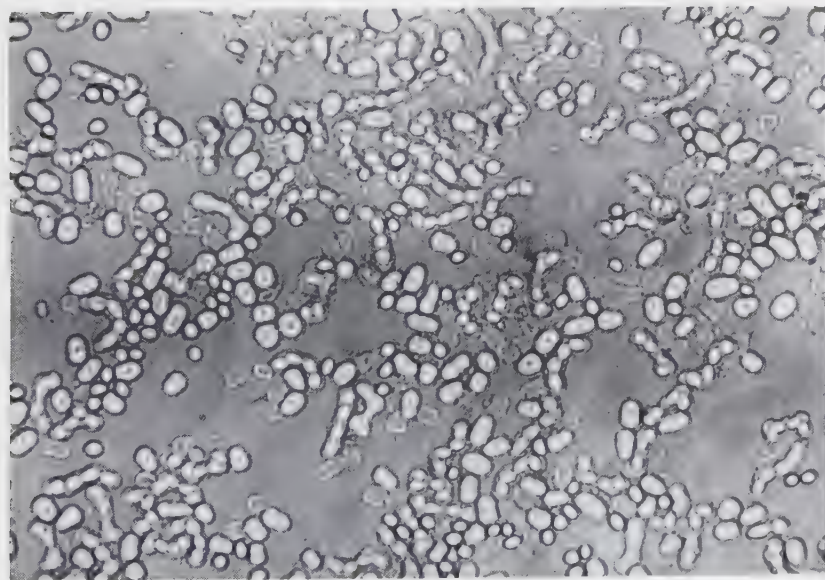
a



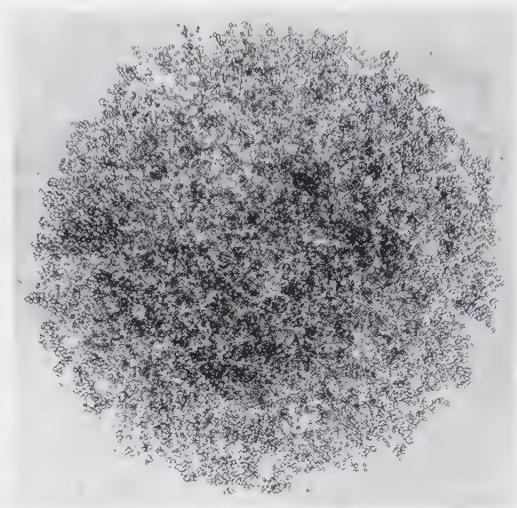
b



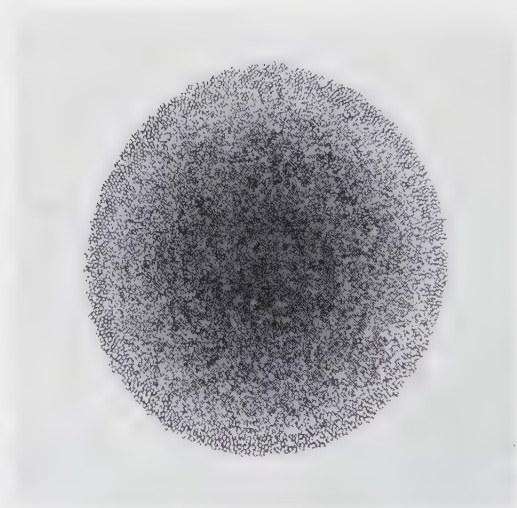
a



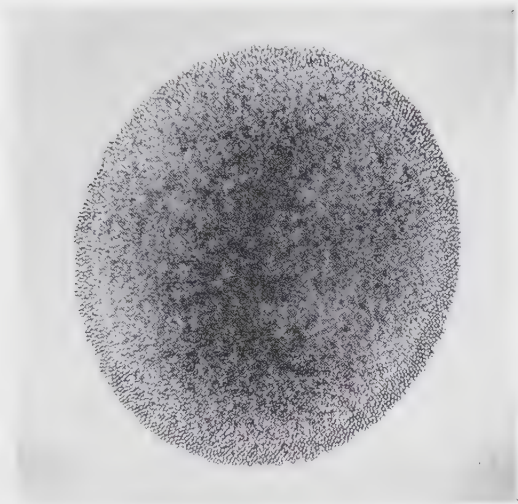
b



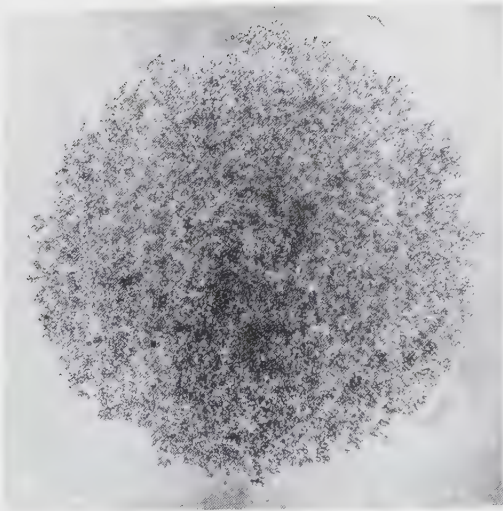
a



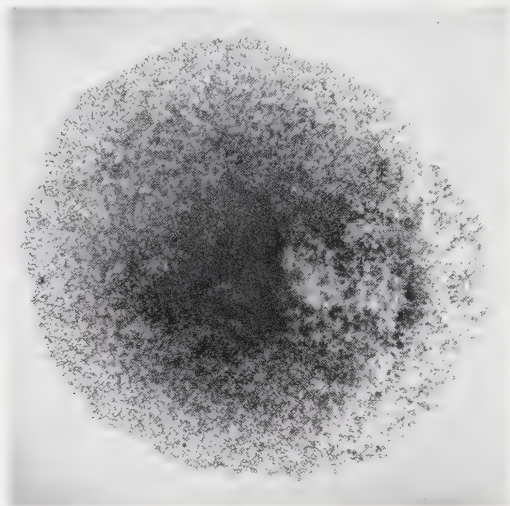
b



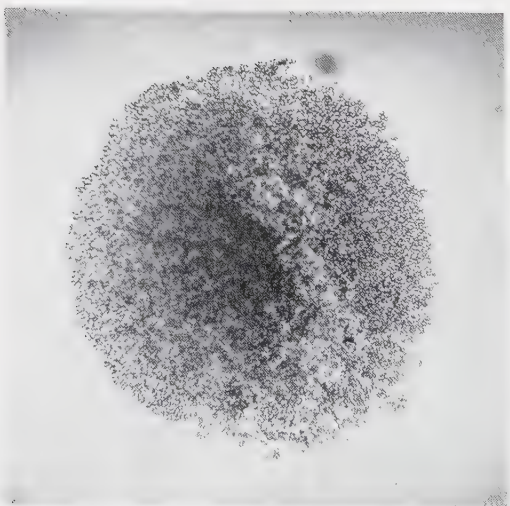
a



b



a



b







